

Série A , n° 890

N° d'ordre 914

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

Le titre de DOCTEUR de l'Université de Paris

(Mention Sciences)

par

Guy PUEYO

1^{re} THÈSE RECHERCHES SUR LA NATURE ET L'ÉVOLUTION DES GLUCIDES SOLUBLES
CHEZ QUELQUES LICHENS DU BASSIN PARISIEN

2^e THÈSE Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 23 Décembre 1959 devant la Commission d'examen

MM. P. CHOUARD _____ Président.

A. DE CUGNAC _____

M. CHADEFAUD _____

} Examineurs.

Série A , n° 890

N° d'ordre 914

THÈSES

présentées

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

pour obtenir

Le titre de DOCTEUR de l'Université de Paris

(Mention Sciences)

par

Guy PUEYO

1^{re} THÈSE RECHERCHES SUR LA NATURE ET L'ÉVOLUTION DES GLUCIDES SOLUBLES
CHEZ QUELQUES LICHENS DU BASSIN PARISIEN

2^e THÈSE Propositions données par la Faculté.

Soutenues le 23 Décembre 1959 devant la Commission d'examen

MM. P. CHOUARD Président.

A. DE CUGNAC
M. CHADEFAUD } Examineurs.



FACULTE DES SCIENCES DE L' UNIVERSITE DE PARIS

PROFESSEURS

Doyen J. PERES

G. JULIA	T Anal. sup. & Algèbre sup.	L'HERITIER	T Génétique
E. DARMOIS	T Enseignement de Physique	GRIVET	T Radioélectricité
FOCH	T Méc. phys. et Expérimentale	PONCIN	T Mécanique des fluides
PAUTHENIER	T Electrotechnique générale	THIRY	T Mécanique appliquée
DE BROGLIE	T Théories physiques	DUBREIL	T Arith. & théor. des nombres
JOB	T Chimie générale	QUELET	T Chimie organique
PRENANT	T Anatomie & Histol. comparées	CAGNIARD	T Géophysique appliquée
GARNIER	T Géométrie supérieure	CHAMPETIER	T Chimie macromoléculaire
PERES	T Mécanique des fluides & appl.	CUVILLIER	T Géol. struct. & Géol. Appl.
LAUGIER	T Physiologie générale	JUNG	T Pétrographie
M. CURIE	T Physique (P.C.B.)	TRILLAT	T Microscopie et diffraction
BARRABE	T Géol.struct. & Géol. appliquée		électronique
G. DARMOIS	T Calc. des prob. & Phys. Math.	WIEMANN	T Chimie organ. structurale
J. BOURCART	T Géogr.Phys. & Géol. dynam.	JACQUINOT	T Spectrosc. et Phys. Céleste
PLANTEFOL	T Botanique	VASSY	- Physique de l'atmosphère
GRASSE	T Evol. des êtres organisés	DESTOUCHES	Théories physiques
PREVOST	T Chimie organique	M. PRUVOST	T Géologie
BOULIGAND	T Appl. de l'analyse à la Géom.	AMIEL	T Chimie (P.C.B.)
CHAUDRON	T Chimie appliquée	HOCART	T Minéralogie
WYART	T Minéralogie	J.P. MATHIEU	T Physique (P.C.B.)
TEISSIER	T Zoologie	COUTEAUX	T Biologie animale (P.C.B.)
MANGENOT	T Biologie Végétale	MAY	Biologie animale (P.C.B.)
P. AUGER	T Physique quantique & Relat.	CHOQUET	T Calc. diff. & Intégral
MONNIER	T Physiologie des fonctions	FELDMANN	Biologie (P.C.B.)
PIVETEAU	T Géologie	GUINIER	T Physique (P.C.B.)
ROCARD	T Physique (E.N.S.)	JOST	T Biologie (P.C.B.)
H. CARTAN	T Mathématiques (E.N.S.)	FORTET	T Calc. des probabilités
LAFFITTE	T Chimie générale	SCHWARTZ	T Méth. Mathém. de la Phys.
FAVARD	T Mécanique générale	CHOUARD	T Physiologie végétale
COULOMB	T Physique du Globe	MALAVARD	T Aviation
Mlle COUSIN	T Biologie animale (P.C.B.)	BRELOT	T Calcul différentiel
CHRETIEN	T Chimie minérale	NORMANT	T Chimie (P.C.B.)
P. DRACH	T Zoologie	BENARD	T Chimie (P.C.B.)
KASTLER	T Physique	BUYAT	T Botanique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T Génétique	DUGUE	T Statistiques mathématiques
WURMSER	T Biol. Physico-chimique	GELOSO	Chimie (S.P.C.N.)
RIVIERE	T Géologie (S.P.C.N.)	SOULAIRAC	T Psychophysiologie
GAUTHERET	T Biologie végétale (P.C.B.)	ULRICH	T Physiologie végétale
LUCAS	T Recherches physiques	MARECHAL	T Optique théor. et appl.
A. THOMAS	T Biologie cellulaire	KIRRMANN	T Théories chimiques
ARNULF	T Optique appliquée	CHADEFAUD	Botanique
M. MORAND	T Physique	DESTRIAU	Physique (M.P.C.)
SOLEILLET	T Physique	Mlle LE BRETON	Physiologie générale
FORTIER	T Méc. expér. des fluides	SALEM	Mathématiques générales
DANJON	T Astronomie	LELONG	T Mathématiques générales
FROMAGEOT	T Chimie biologique	DEVILLERS	Anat. & Histol. comparées
LAPORTE	T Phys.génér. et radioactivité	EHRESMANN	T Topologie algébrique
JANET	T Méc. anal. & Méc. céleste	FRANCON	Physique (M.P.C.)
PETIT	T Biologie maritime	GIANGEAUD	T Géographie physique et Géolo-
QUENEY	T Météor. & dyn. atmosphér.		gie dynamique
GALLIEN	T Embryologie	GODEMENT	T Mathématiques (M.P.C.)
EICHHORN	T Biologie Végétale (P.C.B.)	PISOT	T Calcul des probabilités
DE CUGNAC	Biologie Végétale (P.C.B.)	ROCH (E.)	Géologie
Mlle CAUCHOIS	T Chimie physique	SCHATZMANN	Astrophysique
THELLIER	T Physique du Globe	TERMIER	T Paléontologie stratigraphique
AUDUBERT	T Electrochimie	ZAMANSKY	T Mathématiques générales

A MA FEMME



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547108_0024

- I N T R O D U C T I O N -

Les Lichens sont des êtres doubles, formés de l'association d'une Algue et d'un Champignon.

Le Champignon forme la trame du Lichen, à l'intérieur de laquelle se trouvent les gonidies d'une Algue. Les Champignons appartiennent, chez la plupart des Lichens, à deux grands groupes d'Ascomycètes : les Discomycètes (Champignon à apothécies ouvertes) et les Pyrénomycètes (Champignon à apothécies fermées). Quelques uns, cependant, appartiennent aux Basidiomycètes. On subdivise ainsi les Lichens en Ascolichens et en Basidiolichens. Nous savons que la morphologie du Lichen dépend le plus souvent du Champignon (l'Algue jouant un rôle moins apparent). Le thalle peut être gélatineux, filamenteux, crustacé, foliacé, radié ou fruticuleux et même, intermédiaire entre ces divers aspects.

Les Algues appartiennent soit aux Cyanophycées, soit aux Chlorophycées. Parmi les Cyanophycées, on trouve principalement les familles des Chroococcacées, des Nostocacées (Peltigera), des Rivulariacées (Lichina). Parmi les Chlorophycées, on peut remarquer les familles des Palmellacées (Peltigera), des Protococcacées (très représentée), des Chlorellacées (Cladonia), des Trentepohliacées, etc...

Cette association d'une Algue et d'un Champignon est généralement considérée comme une symbiose. Pour certains auteurs, cette symbiose serait soit mutualiste, le Champignon fournissant les éléments minéraux et l'Algue permettant la photosynthèse; pour d'autres, elle serait antagoniste, le Champignon tendant à étouffer l'Algue (filaments) et l'Algue tendant à envahir le Champignon (céphalodies).

A leur complexité de structure, correspond une complexité biochimique et physiologique. Leurs constituants et leur métabolisme vont dépendre de la nature des deux associés et aussi de leur état de symbiose, tant au point de vue biologique que chimique.

De nombreux travaux ont été entrepris sur la chimie des Lichens par divers auteurs. Les uns se sont appliqués à rechercher les principes immédiats : constituants minéraux ou organiques ; les autres se sont attachés à suivre l'évolution de ces corps dans les Lichens et à préciser leurs propriétés biologiques et pharmacodynamiques. En particulier, une étude extensive a été faite sur les acides organiques propres à ces végétaux, appartenant soit à la série aliphatique, soit à la série aromatique ; ces corps peuvent se présenter à l'état libre, ou estérifiés,

ou même parfois sous forme de dérivés neutres non saponifiables, comme il ressort des nombreux travaux d'ASAHINA et de ses collaborateurs (2). Plus de 160 corps de ce type ont pu être identifiés, certains d'entre eux présentent des propriétés antibiotiques (ASAHINA).

Les pigments verts, bleus, violets, rouges, bruns ou noirs des Lichens ont fait également l'objet d'un certain nombre de travaux, notamment de BACHMANN en 1890 (4) .

Les substances glucidiques hautement condensées (glucides "insolubles") ont suscité également des recherches. Ainsi, on a trouvé des glucides complexes apparentés à l'amidon ou au glycogène : la lichénine, l'isolichénine, les hémicelluloses, etc... Par contre les glucides "solubles" à molécules plus simples, par exemple, les sucres et les alcools, ont été moins étudiés.

Compte-tenu de ces données, notre regretté Maître, le Professeur Charles SANNIÉ, titulaire de la Chaire de Chimie Appliquée aux Corps Organisés du Muséum d'Histoire Naturelle, nous avait proposé comme sujet de thèse, l'étude de la nature des glucides solubles et de leur métabolisme chez quelques Lichens du Bassin Parisien.

A cet effet, nous nous sommes attaché à étudier les glucides d'une dizaine de Lichens de la région parisienne, tant au point de vue chimique que physiologique.

En présentant notre travail, nous ne saurions oublier tout ce que nous devons au regretté Professeur SANNIÉ, qui nous a accueilli avec beaucoup de bienveillance dans son laboratoire et a tout fait pour faciliter notre tâche.

Notre vive gratitude va également à Monsieur CHOUARD, Professeur de Physiologie Végétale à la Sorbonne, qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse et qui a manifesté un vif intérêt pour notre travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à Monsieur le Professeur DE CUGNAC, qui a bien voulu accepter d'être rapporteur et à Monsieur le Professeur CHADEFAUD pour sa participation à notre Jury.

Nous remercions également Monsieur le Professeur DES ABBAYES des précisions qu'il nous a si aimablement communiquées ; sa compétence nous a facilité la détermination d'un certain nombre de nos espèces et sous-espèces de Lichens.

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à Monsieur DUPÉRON, Maître de Conférences à la Faculté des Sciences de Poitiers, qui nous a initié à de nombreuses techniques. Nous prodiguant de précieux conseils, il nous a permis de mener à bien nos recherches ; nous lui adressons nos très vifs et très sincères remerciements.

Notre gratitude va également à Monsieur le Professeur

HEIM, Membre de l'Institut, Directeur du Muséum, pour l'intérêt qu'il a manifesté pour nos recherches, et à Monsieur le Professeur MENTZER, titulaire de la Chaire de Chimie au Muséum.

Nos remerciements vont aussi à Monsieur FRÈREJACQUE, Sous-Directeur au Muséum, dont les conseils nous ont permis d'éclaircir un point particulièrement délicat.

Par ailleurs, nous exprimons notre vive gratitude à Monsieur et Madame JOVET, pour le réconfort qu'ils nous ont si souvent apporté.

EXPOSE SUCCINCT DES CONNAISSANCES ACTUELLES
RELATIVES AUX GLUCIDES DES THALLOPHYTES
ET PLUS PARTICULIEREMENT DES LICHENS

L'ensemble des glucides solubles a été plus étudié chez les Algues et les Champignons que chez les Lichens.

On sait que le saccharose, le glucose et le fructose forment les principales substances glucidiques solubles des plantes supérieures. Chez les végétaux inférieurs, appartenant à l'embranchement des Thallophytes, Champignons et Algues, on ne rencontre que rarement le saccharose et le fructose.

Nous examinerons, tout d'abord, la nature des glucides rencontrés chez les Algues, puis celle des glucides des Champignons et enfin, nous relaterons ce que l'on sait actuellement sur les glucides des Lichens.

I - IDENTIFICATION DES GLUCIDES CHEZ LES THALLOPHYTES

a) Travaux relatifs à l'identification des glucides des Algues.

S'il existe des convergences chimiques entre les plantes vertes et les végétaux hétérotrophes, c'est sans doute chez les Algues qu'on pourra le mieux les observer.

En effet, on remarque chez les Algues vertes (Chlorophycées) et chez certaines Algues bleues (Cyanophycées), la présence de glucides solubles identiques à ceux des végétaux supérieurs, par exemple le glucose, le fructose, le saccharose et peut-être l'amidon et le glycogène. Par contre, chez les Algues brunes et chez les Algues rouges, le glucose et le fructose sont peu fréquents, le saccharose exceptionnel, mais d'autres glucides peuvent y être décelés, comme le tréhalose (diholoside constitué par 2 glucoses reliés en 1-4) et des hétérosides particuliers (mannoglycérate de sodium, floridoside, etc...).

En 1930, COLIN découvre le floridoside (une molécule de galactose unie à une molécule de glycérol) dans une Floridée marine "Rhodymenia palmata"⁽¹⁷⁾ puis dans vingt autres espèces de Floridées marines⁽²⁰⁾. Quelques années plus tard, il trouve du tréhalose chez les Algues bleues et . PAYEN réussit à extraire le tréhalose à l'état cristallin de Rivularia bullata, Algue cyanophycée (18). Le tréhalose est accompagné de floridoside et de glycogène, chez les Algues rouges d'eau douce (19).

Les travaux de l'école de COLIN se sont poursuivis par les recherches d'AUGIER (3) ; cet auteur décèle le tréhalose à côté du floridoside dans deux floridées d'eau douce, Lamanea et Sacheria ; il a également trouvé du⁽¹⁸⁾ glycogène et de la gélose. En outre, un amidon particulier,

l'amidon floridéen (21), substance entre l'amidon proprement dit et le glucogène, et d'autres corps ont été également identifiés.

Prenant une Algue rouge de nos côtes "Caulacanthus Ustulatus", A.M. LEBOUCHÉ rencontre successivement dans cette Rhodophycée, le floridoside, le mannoglycérate de sodium, l'isofloridoside, le mannoside du floridoside et le tréhalose (33). RICARD précise la constitution glucidique de certaines Algues brunes contenant du mannitol (56).

Récemment, des hétérosides d'un type particulier, formés par l'union d'un polyalcool dérivé des sucres et d'un ose, ont été isolés et caractérisés. Ces polyalcools ont d'ailleurs été trouvés à l'état libre dans de nombreuses Algues. En 1953, LINDBERG découvre un mannitol-monoglucoside chez "Fucus vesiculosus" (37), puis avec PAJU, décèle la présence d'un glucosido-volémitol chez "Pelvetia canaliculata" (38). QUILLET remarque du fructose chez "Laminaria flexicaulis" (50), puis de la laminarine (glucosane, dont les glucoses sont reliés en 1-3), du mannitol et du volémitol (52).

Tout récemment, en 1958, B. RIQUIER trouve dans une Algue brune de notre littoral, "Pelvetia canaliculata", des polyalcools en quantité importante : du mannitol et du volémitol (57).

Ainsi, on peut rencontrer les glucides des plantes

supérieures : saccharose, glucose, fructose, chez certaines Algues bleues et chez les Algues vertes (Chlorophycées) avec en plus parfois du tréhalose, tandis que les Algues brunes (Phéophycées) et les Algues rouges (Rhodophycées), présentent ordinairement des glucides différents : tréhalose, hétérosides, floridoside, isofloridoside, mannoglycérate de sodium, etc... et souvent des alcools dérivés des sucres, à l'état libre (volémitol, mannitol), ou sous forme de combinaison hétérosidique.

b) Travaux relatifs à l'identification des glucides des Champignons.

Les Champignons ont également une composition glucidique fort variable.

Dans le protoplasme, on a remarqué au début du siècle dernier, la présence de polyalcools dérivés des sucres et notamment celle du mannitol (BRACONNOT en 1811) (11). Le mannitol semble être le glucide le plus commun et le plus abondant dans les Champignons (jusqu'à 20 p. 100 du poids du thalle). Différents auteurs ont identifié et isolé l'érythrol (alcool dérivé des sucres en C₄), l'arabitol (alcool dérivé des sucres en C₅), le sorbitol, l'inositol (alcools dérivés des sucres en C₆) et le volémitol (alcool dérivé des sucres en C₇). Les oses semblent peu fréquents chez les Champignons et, comme le fait observer FRÈREJACQUE (), à

part le glucose (qui, d'ailleurs, n'a été isolé que dans bien peu de cas), on ne remarque pas d'autres hexoses, ni de pentoses. Parmi les holosides solubles, c'est le tréhalose qui paraît le plus commun; il a été identifié par BOURQUELOT (8). Les polyholosides semblent être essentiellement représentés par le glycogène(24) (26).

Dans les membranes, MANGIN signale de la callose (41). ULRICH décèle de la cellulose, principalement chez les Champignons inférieurs (62). A la même époque, QUILLET étudie les mucilages des membranes de certaines espèces (48) et avec LEGRAND, décrit le métabolisme possible du mannitol, en rapport avec celui du glycogène et du fructose (49).

c) Travaux relatifs à l'identification des glucides des Lichens.

Chez les Lichens, on doit s'attendre à retrouver d'une part, les glucides des Algues vertes, parfois des Algues bleues (Collema) et d'autre part, les glucides des Champignons Septomycètes.

La plupart des travaux anciens sur les glucides des Lichens se rapportent à l'étude des glucides insolubles, c'est à dire des polyholosides. La présence de l'amidon et celle de la cellulose paraissent très discutées (14) (39) (58), elles seraient néanmoins possibles dans certaines gonidies (60). La lichénine (6), l'isolichénine(29), l'usnine

(61-63), l'évernine (59), sont des substances isolées à partir des Lichens et assez voisines les unes des autres ; leur formule brute est analogue à celle de l'amidon $(C_6H_{10}O_5)^n$. On signale aussi de la callose (42), des composés pectiques (), des amyloextrines (14) et des hémicelluloses dans les membranes. Au début du siècle, ULANDER (61) et MULLER (44) ont retiré des Lichens, des substances semblables aux hémicelluloses des plantes supérieures (pentosanes, hexosanes). Des substances de ce type ont été extraites par REDON à partir de Cladonia et d'Evernia (55). Le glycogène se localise, soit dans les gonidies, comme le fait remarquer MAMELI (39), soit dans les hyphes, comme le signale ERRERA (24), ou bien encore, dans les asques, comme le démontre CENGIA-SAMBO (14). Au siècle dernier, on avait admis la présence de l'inuline dans les Lichens (28), mais elle paraît bien improbable.

A partir de 1934, ASAHINA et ses collaborateurs ont extrait plusieurs glucides solubles, et substances apparentées, du thalle des Lichens (2), principalement des polyalcools, tels que l'érythritol, le D-arabitol, le mannitol et le volémitol, pour ne citer que les plus courants. En 1952, E. LINBERG, B. WICKEBERG, C.A. WACHTMEISTER découvrent et isolent un hétéroside à partir d'Umbilicaria pustulata (34) dont l'aglycone est un polyalcool : l'arabitol ; ils donnent à ce corps le nom d'"Umbilicine". La molécule de cette

substance résulte de l'union d'une molécule de galactose et d'une molécule d'arabitol (34). Précisant la structure de ce corps, ils le décrivent comme étant un 3-D- arabitol- β -D-galactopyranoside (34). Ils isolent aussi de ce même Lichen, à l'état libre, l'arabitol, le mannitol, le tréhalose et le saccharose (35).

L'année suivante, SW. GARDELL sépare 7 oses par chromatographie sur colonne d'amidon (27) ; se sont le glucose, le galactose, le mannose, le xylose, le ribose, le fucose et le rhamnose. En même temps, B. LINDBERG, A. MISIORNY et

C.A. WACHTMEISTER séparent et isolent, par chromatographie sur colonne de noir animal, le tréhalose, le saccharose et l'umbilicine à partir d'un extrait de Cladonia rangiferina, d'Umbilicaria pustulata, d'Umbilicaria rigida, d'Haematomma ventosum, de Cetraria islandica et de Lecanora atra (36). Par ailleurs, ils isolent l'arabitol à partir d'Umbilicaria pustulata, Lecanora spec., Parmelia furfuracea,

Parmelia conspersa, Thamnolia vermicularis, le mannitol à partir de Nephroma articum, Peltigera aphtosa, Rhizocarpon spec., Umbilicaria pustulata, Umbilicaria spodochroa, Pertusaria amora, Ramalina polymorpha et le volémitol à partir de Dermatocarpon lachneum, Dermatocarpon miniatum, Dermatocarpon miniatum var. complicatum, Dermatocarpon fluviatile. De plus, ils identifient par chromatographie sur papier (36), les alcools dérivés des sucres présents dans

une cinquantaine de Lichens, dont les genres suivants :

Sphaerophorus, Crocynia, Lobaria, Nephroma, Peltigera (aphtosa), Rhizocarpon, Cladonia (alpestris, uncialis, rangiferina) Stereaulon, Umbilicaria (13 espèces dont pustulata), Pertusaria, Lecanora, Ochrolechia, Haematomma, Parmelia (furfuracea, Caperata, physodes, conspersa, amphalodes), Cetraria, Letharia, Alectoria, Ramalina, Thamnolia, Xanthoria (spec), Anaptychia et Lepraria. Enfin, en 1956, Rangaswami et Subramanian identifient un glucoside à partir d'Urginea indica ().

On voit donc, d'après l'exposé de ces différents travaux, que les alcools dérivés des sucres (mannitol, volémitol, arabitol) sont particulièrement fréquents et abondants chez les Algues, les Champignons et aussi les Lichens.

On peut se demander, si cette caractéristique biochimique des Thallphytes n'est pas liée à un métabolisme particulier

II - METABOLISME DES GLUCIDES CHEZ LES THALLOPHYTES

a) Chez les Algues.

La présence des polyalcools dérivés des sucres en quantité parfois importante, semble montrer, comme le suggère QUILLET (52), que la réduction des produits de la photosynthèse chez ces végétaux, peut aller plus loin que le stade "ose" pour atteindre finalement le stade "alcool".

Cet aspect du métabolisme est étudié actuellement chez

les Algues, par QUILLET et ses élèves. En particulier, cet auteur signale la grande quantité de polyalcools trouvée chez les Phéophycées, ce qui atteste une intensité particulière du pouvoir réducteur chez ces Algues. Ainsi, tandis que chez les phanérogames la réduction du CO_2 s'arrête au stade acide organique et glucide, elle serait, chez les Phéophycées, poussée plus loin, pour atteindre le stade "alcool", par suite de l'apport de deux atomes d'hydrogène supplémentaires. On aurait donc, selon QUILLET, "une course oxydative plus longue et un dégagement d'énergie utilisable plus importante, par gramme de matière glucidique synthétisée", comme le démontre la réaction :

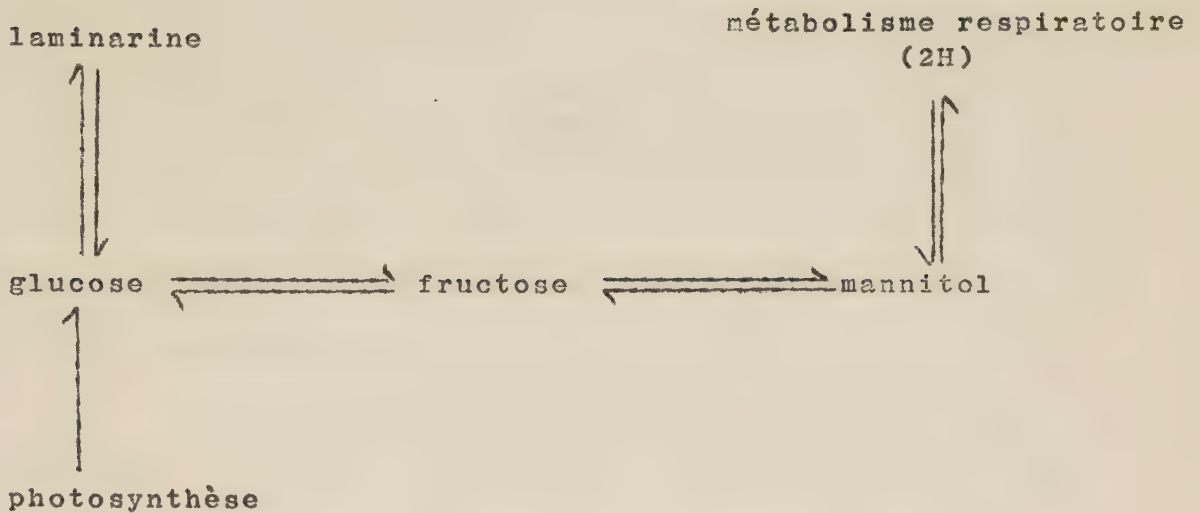


glucide



polyalcool

D'après ce même auteur, la quantité de polyalcool varierait assez largement au cours du cycle végétatif des Algues brunes, prouvant ainsi, que ces polyalcools doivent constituer un terme important du métabolisme glucidique, chez ces végétaux. Il propose alors le schéma suivant, pour expliquer la formation du mannitol chez Laminaria Digitata.



La quantité de mannitol produit dépendrait à la fois de la quantité de fructose formé, soit par photosynthèse, soit par hydrolyse de polyholosides et du débit d'hydrogène fourni par le métablisme respiratoire. Cette production de polyalcool pourrait donc se trouver en rapport avec la quantité de laminarine présente dans la plante ; cette substance constitue en effet le glucide de réserve entposé lorsque la photosynthèse est plus intense que ne l'est la dégradation (comme ce doit être le cas dans la période qui précède la fructification. Le développement de l'Algue serait ainsi marqué par les étapes suivantes : 1°) au Printemps, où la photosynthèse est assez réduite, le glucose formé est intégralement transformé en fructose et aussitôt utilisé dans la respiration. . Dès qu'il apparaît un excès de cet hexose, l'hydrogène livré par le métabolisme respiratoire alors très actif, réduit le glucose en mannitol. 2°) En été, l'excès de glucose s'accumule en laminarine, tandis que la

respiration et l'accumulation de mannitol s'intensifie parallèlement. 3°) En automne, la laminarine s'hydrolyse pour subvenir aux besoins intenses de la fructification, tandis que le mannitol pourrait continuer à s'accumuler faiblement. Ce n'est que plus tard, après la disparition de la laminarine, que le mannitol est utilisé à son tour, lorsque l'intensité de la photosynthèse tend à décroître (52).

Ainsi, le mannitol constituerait une seconde forme glucidique de réserve, la première étant bien entendu, la laminarine. Cette hypothèse se trouve justifiée par le travail de RIQUIER. Dans une récente étude sur les variations de la teneur en polyalcools (mannitol et volémitol), chez une Algue brune "Pelvetia canaliculata" en fonction du développement, cet auteur constate que le volémitol constitue la majeure partie de la réserve en polyalcool (55 à 85 p. 100) et qu'il est notamment toujours en quantité supérieure à celle du mannitol. De plus, la teneur en mannitol et la teneur en volémitol varient selon les saisons, mais non parallèlement, le taux du mannitol culminant en Mai et celui du volémitol en Août et en Mars (57).

Selon RIQUIER, les facteurs extérieurs et, en particulier, l'intensité lumineuse, semblent jouer un rôle important dans la production des polyalcools. Ainsi, l'insolation de Pelvetia canaliculata entraîne une augmentation de la teneur en polyalcool, mais d'une manière différente

1880

1880

1880

1880

1880

1880

1880

pour chacun d'eux. La sécheresse ferait en outre baisser, légèrement et transitoirement, le taux de mannitol et de volémitol. Prolongeant artificiellement cette sécheresse, RIQUIER constate que le mannitol et le volémitol diminuent également. Toutefois, ces facteurs externes ne sauraient expliquer la différence des variations du taux de chacun d'eux. Il faut supposer alors, pour fournir l'explication de ces variations, une intervention des facteurs internes, tels que croissance, fructification, respiration, etc... Le mannitol semble toujours consommé en premier lieu, puis vient ensuite le volémitol. Cet auteur note, de plus, que les diminutions de la quantité de volémitol coïncide avec la production intense des pentoses, qui entrent dans la constitution des mucilages des organes reproducteurs. L'abondance des pentoses à cette période permet de penser que le volémitol apparenté aux heptuloses, pourrait être à l'origine de ces pentoses (57).

Les autres glucides solubles, tels que le tréhalose, n'ont fait l'objet que de travaux plus réduits.

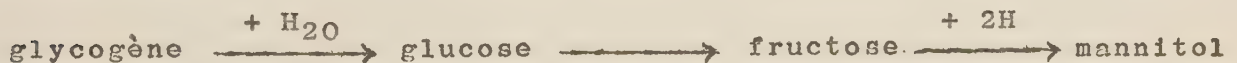
b) Chez les Champignons.

Le tréhalose est fréquent et abondant chez les Champignons. BOURQUELOT a pensé que le tréhalose des Champignons pouvait se transformer en mannitol ; il a en effet constaté simultanément un abaissement de la teneur

en tréhalose et une élévation du taux de mannitol (3).

L'origine du tréhalose est bien moins connue que celle du mannitol. Cet holoside se formerait par soudure de deux molécules de glucose, grâce à l'action d'une diastase, contenant du phosphore (phosphorylase). Inversement, son hydrolyse est l'oeuvre d'une diastase spécifique, la tréhalase, qui coupe le tréhalose en deux molécules de glucose (25).

Certains Champignons, tels que les Russules, ne possèdent pas de tréhalose, mais présentent cependant du mannitol. OBATON (45) mentionne que l'absence de tréhalose est due en partie à l'acidité des milieux de cultures et que, dans ce cas le mannitol est la substance essentielle. En 1952, QUILLET et Mlle LEGRAND (49) expliquent l'intervention des déshydrogénases dans l'apparition du mannitol. Sur Agaric campester, ils observent la disparition du glycogène et corrélativement, l'augmentation du mannitol, expliquant ainsi la relation " glycogène-mannitol" selon le schéma suivant :



Une relation analogue avait été mentionnée précédemment chez les Phéophycées, entre la laminarine et le volémitol.

Chez les Champignons, le glycogène est présent en assez grosse quantité ; il tient un rôle de réserve

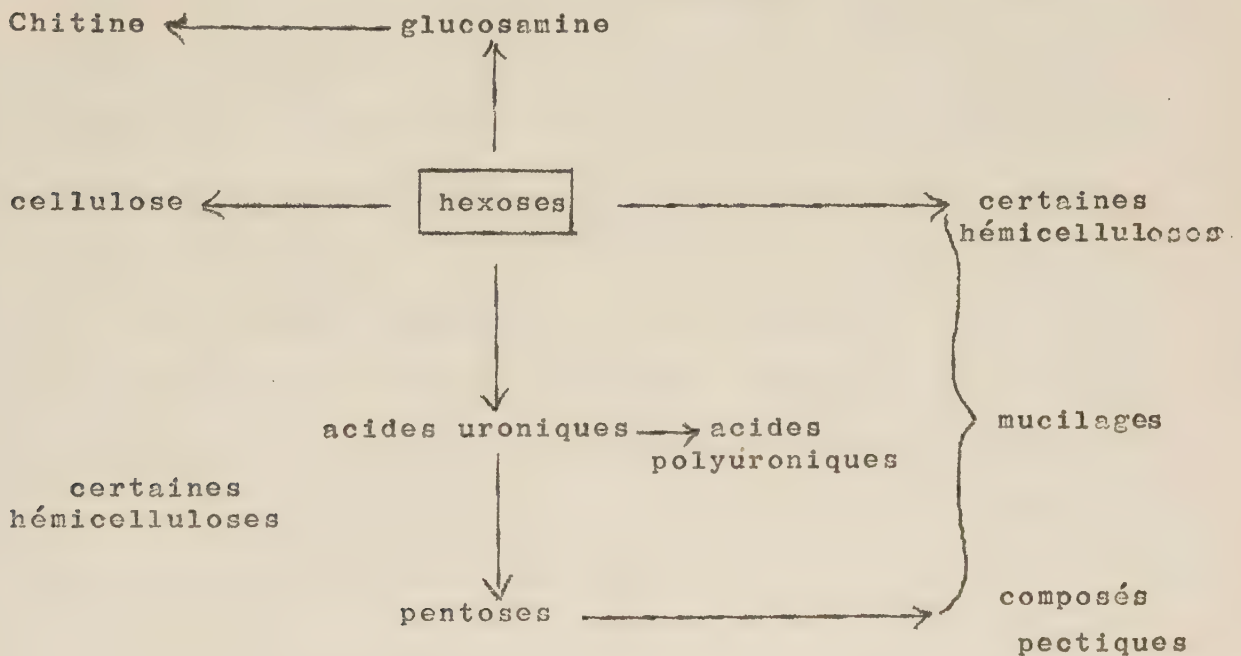
(Phallus impudicus jeune, contient jusqu'à 20p.100 de glycogène) et il est utilisé lors de la maturité du Champignon (Phallus impudicus adulte, ne contient plus que 1,5 à 2 p.100 de glycogène). D'une façon générale, il est établi que, chez les Champignons, le glycogène remplace l'amidon des autres végétaux et remplit les mêmes fonctions.

L'observation des membranes de Mucoracées (41) montre la présence de composés pectiques sur les couches extérieures, tandis que les couches intérieures sont formées de cellulose. On trouve de la callose chez les Penosporées (40), ainsi que de la cellulose ; quant aux Mucorinées(40) on y trouve des composés pectiques et également de la cellulose. La chitine se rencontre surtout dans les Champignons où la cellulose est plus rare, par exemple chez les Ascomycètes et chez les Basidiomycètes (62). MANGIN, étudiant l'évolution de la callose, note sa solubilité dès que certains Champignons atteignent leur maturité (41). Il observe également que les sporanges de certaines Mucoracées contiennent de la cellulose et des composés pectiques à leur jeune âge, tandis qu'à leur maturité, ces deux constituants ont disparu, corrélativement peut-être à l'apparition de la callose (41).

On sait peu de choses sur l'origine de ces substances membranaires. Peut-être y aurait-il une polymérisation des glucides simples, l'accumulation se produisant à la limite

du cytoplasme. Les hémicelluloses correspondraient à une faible condensation ; leur formation serait accompagnée de l'apparition de la cellulose et enfin de la chitine par fixation de radicaux azotés.

Le tableau suivant montre l'évolution possible de ces glucides membranaires (ULRICH) :



Les constituants des membranes auraient peut-être, non seulement, ^{un} rôle de soutien., mais aussi, un rôle de réserve, comme il en est pour certains glucides du protoplasme. De nombreuses observations d'ordre morphologique ont montré les relations qui pourraient exister entre les Champignons supérieurs et les Floridées. La similitude de quelques glucides chez les Champignons et chez certaines

Algues rouges peut corroborer ce rapprochement :

- présence de tréhalose dans les deux groupes.
- présence de glycogène chez les Champignons et les Némationales.
- Formation extraplastidiale du glycogène, d'une part, et de l'amidon floridéen d'autre part.

A propos du glycogène des Champignons et de l'amidon floridéen des Algues (glucoses reliés en 1-3 chez l'amidon floridéen et glucoses reliés en 1-4 chez le glycogène), on peut dire que le rôle physiologique de chacune de ces substances se manifeste par/ ^{l'interpénétration} /et même le remplacement de l'amidon floridéen par le glycogène. Ainsi, chez les Rhodophycées, l'amidon floridéen, substance de réserve, prend naissance au sein du cytoplasme, tandis que dans le cytoplasme des Champignons, apparaît du glycogène jouant le même rôle physiologique que l'amidon.

c) Chez les Lichens.

On a moins de renseignements sur le métabolisme des glucides chez les Lichens, que pour les deux groupes précédents.

α) Gonidies . Des expériences ont montré que les gonidies d'une Algue se développent rapidement sur un milieu dont la source carbonée est le glucose. Cet hexose peut être remplacé par le fructose, le saccharose et le

mannitol. Au contraire, le galactose, l'arabinose, le lactose, le maltose et l'érythritol ne semblent pas devoir être utilisés par les gonidies (53).

On a souvent remarqué que les gonidies se comportaient, au point de vue nutritif, comme les Lichens dont elles proviennent. Ainsi, en réalisant des cultures pures d'Algues de Lichens, CHODAT (16) remarque en 1912-1913, que la gonidie d'une espèce de Verrucaria, croissant habituellement sur une roche brune, a besoin d'éléments minéraux pour se développer ; dans ce cas, la présence de glucides comme le glucose peut aller jusqu'à gêner sa croissance. Au contraire, la gonidie d'un Cladonia croissant habituellement sur un substrat riche en débris organiques, mais, relativement dépourvu de sels minéraux, montre de grands besoins d'éléments organiques riches surtout en carbone et en azote.

Ces quelques exemples montrent l'importance de la gonidie d'une Algue dans la constitution du Lichen. Il en résulte, que la composition chimique de ce dernier est en liaison étroite avec le contenu glucidique de la gonidie,

β) Thalle. Les Champignons ont dans l'association un rôle saprophytique évident. De nombreux glucides solubles et quelques glucides insolubles comme l'amidon, peuvent être utilisés par le Champignon pour son développement. Il faut d'ailleurs noter que le Champignon peut se comporter différemment selon la nature de l'habitat du Lichen dont il

provient (comme nous venons, d'ailleurs, de le voir pour les gonidies). Ainsi, un Champignon d'une espèce se développant sur un substrat organique, se développera bien mieux en présence de glucides (agar-agar) et d'azote organique (agar-peptone). Par contre, un Champignon d'une espèce saxicole (se développant sur un milieu minéral) préférera des substances inorganiques. Dans ce dernier cas, le glucose, non seulement est de peu d'utilité, mais peut même exercer une certaine nocivité.

On s'aperçoit ainsi que "les besoins alimentaires de l'Algue et du Champignon ne sont pas complémentaires, ainsi qu'on aurait pu le supposer, mais au contraire s'exercent dans le même sens" (DES ABBAYES) (1).

- CONCLUSION -

Si beaucoup de travaux ont été réalisés sur les glucides des Algues et sur les glucides des Champignons, tant au point de vue chimique que physiologique, il n'en est pas de même pour les Lichens.

Comme nous l'avons vu, certains auteurs suédois, japonais et indiens se sont attachés à identifier les glucides de plusieurs Lichens, principalement par chromatographie sur papier ; quelques corps furent isolés, en particulier, les alcools dérivés des sucres. Mais peu de travaux

ont trait à l'étude du métabolisme de ces substances chez ces végétaux.

Nous nous sommes donc proposé de compléter et de préciser les notions connues actuellement, sur la composition glucidique des Lichens, en effectuant une étude approfondie de quelques espèces de la région parisienne. Nous avons tenu, en outre, à aborder l'étude du métabolisme de ces substances.

T R A V A U X . P E R S O N N E L S

INTRODUCTION

La plupart des Lichens de la région parisienne n'ont suscité aucune recherche sur la nature de leurs constituants glucidiques.

Dans une première partie, nous avons tenu à préciser la nature des glucides solubles et des polyalcools dérivés des sucres, contenus dans une douzaine de Lichens de la région parisienne. Nous avons tenu également à doser ces substances pour avoir une idée de l'importance quantitative de ces corps. Enfin, nous avons essayé de préciser quelques aspects de leur métabolisme dans une seconde partie. A cet effet, les Lichens suivants ont été étudiés :

LICHENS ET LIEUX DE RECOLTE

gera	horizontalis	Hoffm.	Département du Cher
onia	impexa	Harm.	Forêt de Fontainebleau
onia	endiviaefolia	Mudd.	Département du Cher
licaria	pustulata	Hoffm.	Forêt de Fontainebleau
phora	murina	D. L.	" "
elia	caperata	Ach.	" "
elia	physodes	Ach.	" "
elia	saxatilis	Ach.	" "
nia	prunastri	Ach.	" "
ea	comosa	Röhl	" "
thoria	parietina	Beltr.	Département du Loiret

Ces lichens ont été généralement récoltés vers le milieu du printemps.

P R E M I E R E P A R T I E

I - IDENTIFICATION ET DOSAGE DES GLUCIDES SOLUBLES

A) Dosage des glucides solubles.

a) Exposé de la technique de dosage.

La méthode d'analyse biochimique classique de BOURQUELOT-BRIDEL(9-10) a été retenue pour les différents dosages de glucides solubles.

1°) Stabilisation du matériel frais. Très peu de temps après la récolte, le matériel frais est projeté dans l'alcool éthylique à 96° (G.L.) bouillant et maintenu à ébullition une vingtaine de minutes. Ce traitement stabilise le matériel en détruisant les diastases, sans toutefois altérer les constituants glucidiques. Les Lichens et leur alcool de fixation sont alors conservés dans un flacon bien bouché et à l'abri de la lumière, sans risques d'altération.

2°) Extraction des glucides solubles. Le matériel ainsi fixé est alors repris et l'alcool de fixation décanté sur büchner, tandis que les thalles sont séchés dans une étuve à 40°, puis broyés finement. La poudre obtenue est traitée trois fois par l'alcool éthylique à 80° (G.L.) (nous avons choisi le titre alcoolique de 80°, car à cet être, l'alcool dissout les sucres sans entraîner l'amidon, les

mucilages et les matières pectiques, qui risqueraient d'être partiellement extraits par un alcool de titre inférieur, comme 50° par exemple).

3°) Evaporation des alcoolatures et obtention d'un extrait aqueux calibré. Les alcoolatures sont réunies à l'alcool de fixation et distillées sous pression réduite à une température n'excédant pas 50°. Le résidu sirupeux est repris par l'eau tiède pour être amené à un volume déterminé dans une fiole jaugée, en ayant eu soin au préalable de filtrer l'extrait aqueux sur coton de verre ; cette filtration grossière n'a pour but que l'élimination des substances ayant précipité dans l'eau.

4°) A partir de cette solution aqueuse, contenant tous les glucides solubles du végétal, nous avons dosé successivement :

- les oses libres
- les holosides tributaires de la "saccharase" (invertine de la levure), ici, essentiellement la saccharose.
- les hétérosides β , par l'émulsine (émulsine des amandes).
- le tréhalose, par la tréhalase (tréhalase du suc digestif d'escargot).
- les glucides solubles totaux (oses obtenus après hydrolyse acide par l'acide sulfurique).

De plus, nous avons analysé cet extrait par chromatographie sur papier, pour préciser la nature des glucides présents.

Dosage des oses. Le dosage des oses libres a été réalisé par la méthode de Gabriel BERTRAND (5), après défécation par le sous-acétate de plomb et élimination de l'excès de plomb par une solution saturée de sulfate de soude.

Dosage des holosides tributaires de la saccharase. Après avoir ajouté à la solution aqueuse initiale, environ 0,1g. d'invertase (préparée à partir de la levure fraîche de boulanger selon le procédé de BOURQUELOT), nous avons porté l'extrait additionné de toluène à l'étuve à 35°, afin que s'accomplisse l'hydrolyse enzymatique. Au bout de trois jours, l'extrait est déféqué et le dosage des sucres réducteurs est réalisé selon BERTRAND. L'augmentation de la quantité d'oses obtenus après action de la saccharase, nous permet d'évaluer la quantité de saccharose, mais il faut toutefois préciser que d'autres holosides comme le raffinose et le stachyose sont coupés par la saccharase qui détache de leur molécule, une molécule de fructose.

Recherche et dosage éventuel des β - hétérosides. Après l'opération précédente, l'invertase est détruite en plongeant l'extrait aqueux au bain-marie bouillant pendant quelques minutes (3 ou 4). On ajoute ensuite quelques décigrammes d'émulsine (complexe diastasique riche en

glucosidase β) préparée à partir du tourteau d'amande et on abandonne à l'étuve à 35° pendant une semaine. Les oses sont ensuite dosés selon Gabriel BERTRAND.

Dosage du tréhalose. Après cette action, on détruit cette diastase contenue dans l'extrait (par le procédé employé pour l'invertase), pour ajouter maintenant le suc d'escargot (obtenu par lyophilisation du suc gastrique de cet animal), qui contient en particulier une tréhalose active hydrolysant le tréhalose en 2 molécules (D et D-glucose). Nous savons que si le tréhalose est assez difficilement hydrolysé par les acides, il l'est cependant plus facilement par le tréhalase (25). Porté à l'étuve à 35°, l'extrait en sera retiré au bout d'une dizaine de jours au moins, pour être déféqué et dosé, toujours selon BERTRAND.

Dosage des glucides solubles totaux. Sur l'extrait initial, on effectue une hydrolyse acide, afin de doser les glucides solubles totaux. On défèque au préalable par le sous-acétate de plomb et on élimine l'excès de plomb par l'acide sulfurique. On ajuste ensuite la concentration de l'extrait déféqué, jusqu'à ce que cette concentration atteigne 4p.100 en acide sulfurique (Rapport : $\frac{\text{poids}}{\text{volume}}$). Porté au bain-marie bouillant pendant deux heures, l'extrait est ensuite neutralisé à la soude. Les oses libérés sont enfin dosés selon BERTRAND.

Tous les dosages que nous avons effectués, ont été

été accompagnés de lectures polarimétriques, afin d'établir le pouvoir rotatoire de tous les extraits (pouvoir rotatoire de l'extrait déféqué, mesuré à 20° dans un tube de 2 dcm. à la raie D du sodium).

b) Résultats - Voir Tableau n° 1

1°) Un premier point à noter et sur lequel nous reviendrons plus loin (voir partie physiologique), est le fait que les teneurs en glucides varient, dans une large mesure, selon les saisons. Pour cette raison, les récoltes des Lichens ayant servi aux dosages mentionnés dans le tableau n° I, ont eu lieu le plus souvent en printemps (Mai-Juin).

2°) Parmi les Lichens examinés, Umbilicaria pustulata et Peltigera horizontalis, sont les plus riches en glucides solubles totaux. Ces deux espèces donnent d'ailleurs, des extraits fortement lévogyres, qui laissent soupçonner la présence d'hétérosides (ces hétérosides sont souvent des corps lévogyres). Il est d'ailleurs à remarquer que l'hydrolyse acide libère beaucoup plus d'oses que ne le fait l'ensemble des actions diastasiques successives. Il existe donc un, ou plusieurs principes glucidiques, chez ces deux Lichens, fortement lévogyres et non tributaires des différentes diastases utilisées.

En ce qui concerne Umbilicaria pustulata, on sait, d'après les travaux de LINDBERG, que ce principe

- TABLEAU N° 1 -

DOSAGE DES GLUCIDES SOLUBLES								
Lichen (extrait aqueux)	(α) _D ²⁰ initial pour 100g de poids sec. extrait 100cc	Sucres réducteurs libres	Sucres réducteurs après action de l'inver- tine	Sucres réduct. après ac- tion de l'émul- sine	Sucres réduct. après ac- tion du suc- crescargot	Sucres réduct. après ac- tion de l'hydro- lyse acide	Sucres réducteurs ne pouvant être libérés que par hy- drolyse acide	
Peltigera horizontalis	-1°, 47	0,17	0,28	0,32	0,74	3,26	2,52	
Cladonia impexa	+0°, 27	0,47	0,55	0,73	0,88	0,88	0	
Cladonia edivinaefolia	-0°, 16	0,30	0,44	0,44	1,00	1,10	0,10	
Umbilicaria pustulata	-1°, 45	0,11	0,66	0,76	1,11	3,44	2,33	
Gjrophora murina	+1°	0,23	0,70	1,00	2,11	2,18	0,07	
Parmelia physodes	+1°, 60	0,70	0,88	0,88	1,43	1,43	0	
Parmelia saxatilis	+0°, 27	0,22	0,36	0,48	0,56	1,00	0,44	
Parmelia caperata	+0°, 06	0,26	0,33	0,39	0,45	1,16	0,71	
Evernia prunastri	+0°, 53	0,58	0,94	0,94	1,50	1,50	0	
Uenea comosa	+0°, 60	0,57	0,91	0,91	1,41	1,41	0	
Xanthoria parietina	+0°, 35	0,34	0,37	0,37	0,56	1,81	1,25	

glucidique est l'umbilicine (hétéroside formé de l'union de l'arabitol et du galactose ; corps fortement lévogyre). Le comportement identique de Peltigera horizontalis au cours de nos dosages, nous conduit à penser qu'un corps de ce type pourrait bien exister chez ce Lichen. Nos recherches exposées plus loin, vérifieront cette hypothèse. On peut avoir une idée de la concentration de ces principes glucidiques particuliers, en calculant la différence entre la quantité d'oses obtenus après les diverses actions enzymatiques (invertine, émulsine, suc d'escargot) et la quantité d'oses obtenus par hydrolyse acide. Cette différence obtenue a été de 2,33p.100 (de la matière sèche du Lichen récolté au Printemps) pour Umbilicaria pustulata, et de 2,52p.100 de la matière sèche de Peltigera horizontalis, également récolté au printemps (voir la dernière colonne du tableau page 32). Il est possible que quelques autres Lichens contiennent des hétérosides de ce type, mais en plus faible quantité, exemple : Xanthoria parietina, Parmelia caperata.

3°) Toutes les espèces de Lichens examinées contiennent de petites quantités d'oses libres (0,1 p.100 à 0,7p.100). Nous verrons qu'il s'agit le plus souvent du glucose, du fructose et parfois du galactose. Toutes les espèces contiennent également un peu de glucides hydrolysables par l'invertase, vraisemblablement

le saccharose (indice de réduction enzymolytique, voisin de 600), comme nous le verrons plus loin par chromatographie sur papier.

4°) La plupart des espèces ne semblent pas devoir présenter de β -hétérosides, ou tout au moins en faibles quantités car l'émulsine des amandes n'entraîne la libération que de faibles quantités d'oses (excepté pour Gyrophora murina).

5°) Le tréhalose paraît parfois abondant et largement représenté dans les Lichens étudiés, car la tréhalase du suc d'escargot, après action de toutes les autres poudres diastasiques, libère encore une quantité appréciable d'oses (de 0,6p.100 à 1,1p.100).

6°) En conclusion, les Lichens étudiés, prélevés sensiblement à la même époque, possèdent des quantités très variables de glucides solubles, parfois assez fortes (Umbilicaria pustulata 3,44p.100, Peltigera horizontalis 3,26p.100) et parfois faibles (Parmelia saxatilis 1p.100, Cladonia impexa 0,88p.100).

Il semble bien (et nous le démontrerons plus loin) que les Lichens, riches en glucides, le sont surtout en principes glucidiques particuliers de type hétérosidique (exemple : l'umbilicine).

Les autres glucides (oses et holosides) sont moins abondants. Nous allons préciser leur nature par chromatographie sur papier.

B) Identification des glucides solubles
par chromatographie sur papier.

a) Préparation des extraits.

Une partie de l'extrait aqueux initial est délipidé par l'éther de pétrole et par le benzène. Après séparation des lipides, la solution est centrifugée, filtrée et concentrée sous vide, à basse température. L'extrait brut ainsi obtenu, peut généralement être chromatographié directement d'une façon satisfaisante. Dans quelques cas, cependant, il a été nécessaire de déminéraliser l'extrait par passage sur colonne d'échangeurs d'ions (Dowex : 50 : résine cationique ; Amberlite I R 45 : résine anionique).

b) Réalisation de la chromatographie.

Toutes les chromatographies ont été réalisées avec du papier Whatman n° 1. Le mélange développant a été obtenu le plus souvent avec les solvants butanol-éthanol-eau dans les proportions suivantes : 4-1,1-1,9(31). La durée du développement a été en moyenne de 30 à 60 H , mais dans la plupart des cas, la durée de 36 H semble être un temps optimum pour une température d'environ 20°. Les chromatogrammes, après développement, sont séchés, soit à l'étuve à 100°, soit tout simplement, à la température du laboratoire (18°-20°).

Différents révélateurs furent utilisés : phtalate d'aniline, métaperiodate de sodium, phosphate de p-anisidine, réactif à l'urée. Mais ce sont surtout ces deux derniers qui furent employés systématiquement.

Le révélateur au phosphate de para-anisidine fut préparé selon la méthode de MUHKERJEE et SRIVASTAVA (43), avec 0,5 g. de phosphate de p. anisidine cristallisé, 2 cm³ d'acide phosphorique (densité 1,75) et 50 cm³ d'alcool à 96° (G.L.) pour entraîner le phosphate de p.anisidine formé. Ce réactif révèle tous les sucres (aldoses et cétoles). Pulvérisé sur le chromatogramme, il donne, après chauffage de quelques minutes à l'étuve à 105°, une tache jaune avec le fructose et une tache brune de nuance variable, avec les autres sucres (rouge cerise avec les acides uroniques).

Le révélateur à l'urée, selon HIRST et JONES (30), nous donne de très bons résultats. Le réactif est obtenu en dissolvant 5g. d'urée dans 20 cm³ d'acide chlorhydrique 2 N, le volume étant complété avec de l'alcool à 96° jusqu'à 100 cm³. Ce réactif pulvérisé sur le chromatogramme, donne, après chauffage à l'étuve à 110° pendant cinq à six minutes, une tache gris bleu avec les cétoles et les holosides contenant au moins une molécule de cétole dans leur molécule (le saccharose, par exemple). Il ne révèle pas les aldoses.

Nous avons schématisé dans le tableau suivant (p.30)

les résultats de nos divers chromatogrammes (Tableau n° 2).

c) Résultats.

Ces résultats montrent la présence du glucose et du fructose dans presque tous les Lichens. Le galactose est également présent, mais en faible quantité. La plupart des Lichens contiennent du saccharose, également en faible quantité, comme l'ont confirmé les dosages.

Sur les chromatogrammes de l'extrait de Peltigera horizontalis, une tache particulière apparaît au niveau du saccharose, mais correspondant à un autre corps révéla-
ble par la p-anisidine. En effet, alors que le saccharose donne une tache franchement brune, celle-ci présente une coloration brun-rouge. Sur le chromatogramme d'un extrait préalablement traité par l'invertase, on retrouve cette tache avec le même Rf et la même coloration. Il ne peut donc s'agir du saccharose. Ce fait n'exclut pas la présence d'un peu de saccharose dans l'extrait initial de Peltigera horizontalis; sa tache est seulement masquée par celle de ce corps particulier.

Lors de la révélation des chromatogrammes à la para-anisidine, en prolongeant le chauffage à 105° en présence d'acide phosphorique, le papier jaunit légèrement. Dans ces conditions, on remarque la présence de taches qui demeurent incolores sur le papier jauni. Ces taches apparaissent sur le chromatogramme des extraits de la plupart des Lichens et correspondent aux polyalcools

IDENTIFICATION DES GLUCIDES PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

L I C H E N S	Saccharose	Glucose	Fructose	Galactose
Peltigera horizontalis	-	+	-	+
Cladonia impexa	+	+	+	+
Cladonia endiviaefolia	-	+	+	+
Umbilicaria pustulata	+	+	+	+
Gyrophora murina	+	-	-	+
Parmelia physodes	-	+	+	-
Parmelia saxatilis	+	+	+	+
Parmelia caperata	+	+	+	-
Evernia prunastri	+	+	+	+
Usnea comosa	+	-	+	-
Xanthoria parietina	+	+	+	+

La présence des différents glucides est indiquée par le signe +
L'absence de ces corps est indiquée par le signe -.

dérivés des sucres (mannitol, arabitol, volémitol, etc...);
(voir plus loin : chromatographies des polyalcools).

Ces substances semblent très répandues chez les Lichens.

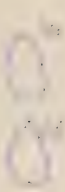
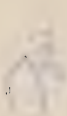
Conclusion. Ces résultats démontrent d'une part, la présence de glucides que l'on rencontre fréquemment chez les végétaux supérieurs : glucose, fructose, saccharose, galactose ; d'autre part, l'existence d'un corps particulier chez Peltigera horizontalis (qui est peut-être le principe lévogyre, dont nous avons parlé plus haut).

Enfin, les taches incolores (zones blanches des chromatogrammes révélés à la p-anisidine : couleur du papier) correspondent à des polyalcools dérivés des sucres (15), ce que nous allons vérifier ultérieurement.

Ceci nous^a amené à étudier, parallèlement aux glucides solubles proprements dits, les alcools dérivés des sucres.

Fig. 1 - Reproduction de chromatogramme de glucides solubles

1000 mg de glucides solubles / 100 ml de solvant

USHEA COMOSA		
Glucose (standard)		
Enzyme Maltase		
Enzyme Amylase		
Saccharose (standard)		
Glucose (standard)		



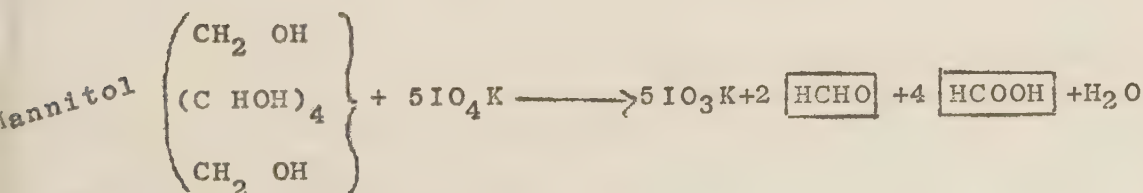
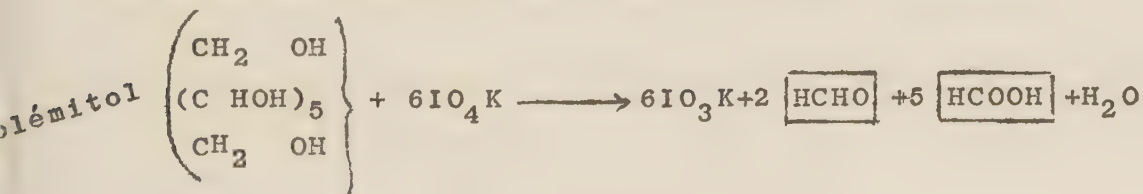
II - IDENTIFICATION ET DOSAGE DES POLYALCOOLS

A) Dosage des polyalcools totaux

a) Exposé de la technique de dosage.

Comme l'exposent CAMERON, ROSS. et PERCIVAL (13), l'oxydation periodique des polyalcools permet de doser le mannitol dans les Algues par évaluation de la quantité d'acide periodique consommée dans cette oxydation. A cet effet, ces auteurs font remarquer qu'une molécule d'oxydant est consommée par chaque groupe α -glycol : soit 2 molécules pour 3 OH contigus et 3 molécules pour 4 OH contigus.

On voit, par le schéma suivant, que, sous l'action oxydante du réactif, les liaisons entre 2 atomes de carbone contigus sont scindées, les fonctions alcools primaires transformées en aldéhyde formique et les fonctions secondaires, en acide formique :



D'après la formule précédente, une molécule de mannitol entraîne donc la disparition de cinq molécules de periodate de potassium ($5\text{IO}_4\text{K}$ transformés en 5 molécules d'iodate). Cette quantité de periodate utilisée peut être déterminée par titrage avec une solution d'hyposulfite de soude N/10, après addition d'iodure de potassium et d'acide sulfurique.

La réaction de titration du periodate est la suivante :



On voit donc qu'une molécule de periodate donne bien 2I . On sait que l'oxydation du mannitol est presque totale en une minute, d'après CAMERON, ROSS et PERCIVAL . Ce temps très court, pendant lequel s'effectue cette oxydation des polyalcools, ne permet pas aux autres substances et notamment aux sucres (d'ailleurs en très faible quantité le plus souvent) de s'oxyder également et d'introduire ainsi des erreurs par excès. Par exemple le glucose, l'un des sucres les plus sensibles, demande au moins une heure de contact avec le periodate pour s'oxyder.

Nous avons appliqué cette méthode, pour doser les polyalcools de nos Lichens. Pour cela, nous avons pris quelques centimètres cubes (souvent 2 cm^3) de l'extrait aqueux initial non déféqué (après avoir vérifié que le dosage pouvait s'effectuer directement sur l'extrait non

déféqué) et nous avons appliqué la méthode de dosage telle qu'elle est décrite par CAMERON, ROSS et PERCIVAL. Nous avons versé 5 cm³ d'acide sulfurique 0,1 N et 5 cm³ d'acide périodique 0,1 M. Après une minute exactement d'agitation, nous avons ajouté 2g. d'iodure de potassium (I K pur), afin de détruire l'excès de periodate et de libérer l'iode correspondant, et enfin 20cm³ d'acide sulfurique 4 N . Il nous a suffi ensuite de titrer l'iode libéré, par une solution d'hyposulfite de soude décinormale (N/10).

Parallèlement, on réalise un témoin dans les mêmes conditions, afin d'établir par différence avec l'essai, la quantité d'IO₄K utilisée dans l'oxydation des polyalcools.

Toutefois, dans ces conditions, bien que l'oxydation soit très rapide, seuls 93p.100 de mannitol se trouvent oxydés en une minute, selon CAMERON, ROSS et PERCIVAL. Ces auteurs recommandent donc, de multiplier le résultat obtenu par le facteur:100/93.

On obtient ainsi, par cette méthode de dosage, des résultats à ± 2p.100 près (vérifiés par nous par une série de dosages sur du mannitol pur).

b) Résultats

(voir tableau n° 3)

DOSAGE DES POLYALCOOLS DERIVES DES SUCRES		
L I C H E N S		Alcools totaux exprimés en mannitol p. 100 de matière sèche
Peltigera	horizontalis	2,21
Cladonia	impexa	1,70
Cladonia	endivivaefolia	4,92
Umbilicaria	pustulata	3,14
Gyrophora	murina	2,87
Parmelia	physodes	3,12
Parmelia	saxatilis	2,42
Parmelia	caperata	3,31
Evernia	prunastri	4,21
Usnea	comosa	3,34
Xanthoria	parietina	3,01

Les résultats représentent les alcools totaux en p.100 de matière sèche exprimés

D'après le tableau de la page précédente (Tableau n° 3), on remarque que Cladonia endivulaefolia et Evernia prunastri sont les plus riches en polyalcools (plus de 4p.100).

Usnea comosa, Parmelia caperata, Umbilicaria pustulata, Parmelia physodes et Xanthoria parietina sont, eux aussi, assez riches en alcools, puisqu'ils en détiennent plus de 3p.100.

Viennent ensuite Gyrophora murina, Parmelia saxatilis et Peltigera horizontalis qui en possèdent plus de 2p.100.

Enfin, Cladonia impexa est assez pauvre, puisqu'il ne détient que 1,70 p.100 de polyalcools totaux.

On observera que ces Lichens contiennent le plus souvent une proportion plus forte de polyalcools dérivés des sucres, que de glucides solubles proprement dits (oses, holosides, hétérosides).

B - Identification des polyalcools par chromatographie sur papier.

a) Préparation des extraits.

Ayant vérifié que les glucides, et, en particulier les oses, pouvaient gêner la révélation et corrélativement l'interprétation de la chromatographie sur papier des

polyalcools, il nous est apparu nécessaire de soumettre les extraits initiaux à une fermentation par la levure de bière (22), (après avoir vérifié que la levure utilisée ne contenait aucune trace de polyalcools). A cet effet, chaque extrait aqueux additionné d'un peu de levure est laissé à l'étuve à 37° pendant plusieurs jours, afin de permettre la disparition des sucres fermentescibles tels que le glucose, le fructose et le saccharose . Après s'être assuré que la fermentation est bien achevée, on détruit les enzymes de cette levure par ébullition, puis on centrifuge et on filtre l'extrait.

Nous avons remarqué de même, que les substances ionisables (acides organiques, acides aminés, sels de ces acides, sels minéraux, etc...) perturbent la chromatographie sur papier, des alcools. Aussi avons-nous été obligé d'éliminer ces substances ionisables, par passage de l'extrait sur deux colonnes d'échangeurs d'ions. Pour cela, après défécation de l'extrait par l'acétate neutre de plomb et élimination de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré, l'extrait passe sur une colonne de "Dowex 50", résine permettant de fixer les cations, puis sur une colonne d' "Amberlite I R 45", qui possède la faculté de fixer les anions.

Après concentration de l'extrait à très petit volume (jusqu'à consistance légèrement sirupeuse), on réalise la chromatographie sur papier.

b) Chromatographie des polyalcools.

Le papier choisi est le Whatman n° 1 et le mélange développant, celui de HOUGH, JONES et WADMANN, avec les proportions suivantes : Butanol 4 - Ethanol 1,1 - Eau 1,9 (31). (Nous avons utilisé comme polyalcools de référence, des produits purs, bien cristallisés, tels le sorbitol, le mannitol, le dulcitol, l'arabitol, etc...). Le développement se poursuit de 36 à 48 heures . Après séchage de la feuille, nous révélerons les alcools avec le révélateur de BRADFIELD et FLOOD (12).

Ce révélateur est basé sur l'emploi du pourpre de bromocrésol, en présence d'un tampon d'acide borique - borate . Les alcools donnent dès la pulvérisation à froid (révélation instantanée) une coloration jaune sur fond bleu-violet. Mais il faut cependant noter que certains oses (glucose, fructose) donnent également dans ces conditions, une tache plus ou moins accentuée.

On peut aussi révéler la chromatographie comme s'il s'agissait de détecter les sucres, par le réactif de phosphate de para-anisidine (on sait que les sucres : arabinose, xylose, raffinose, glucose, fructose, galactose, saccharose, etc. donnent des couleurs diverses et souvent caractéristiques). On s'aperçoit lors de la révélation, que les polyalcools ne se colorent pas et donnent une zone incolore (blanc du papier) se détachant sur le fond du chromatogramme légèrement brun (action du

révélateur acide sur la cellulose du papier, à l'étuve à 105°). Dans un travail récent sur la chromatographie des alcools sur papier, J. CERBULIS (15) avait déjà utilisé ce procédé de révélation.

c) Résultats .

Le tableau suivant (tableau n° 4) nous donne une idée d'ensemble des chromatogrammes relatifs aux poly-alcools dérivés des sucres. Ces chromatographies (comme d'ailleurs celles des sucres) ont été effectuées avec toutes les espèces étudiées et, pour chaque espèce, il a été fait plusieurs chromatogrammes.

Dès la révélation, il apparaît aussitôt des taches jaunes, tout d'abord au niveau du mannitol, pour tous les Lichens, et de l'arabitol pour la plupart d'entre eux. Chez quelques Lichens, nous avons observé parfois une ou deux taches supplémentaires, dont nous n'avons pu définir la nature avec certitude.

Enfin, on notera que la tache (signalée plus haut p. 37) située au niveau du saccharose de Peltigera horizontalis se révèle par les deux révélateurs utilisés (tache brun-rouge par le phosphate de p. anisidine et tache jaune par le pourpre de bromocrésol). Ceci nous laisse penser que cette substance pourrait contenir dans sa molécule à la fois un ose et un polyalcool. Ce point sera d'ailleurs vérifié plus loin.

CONCLUSION . On observe une quantité assez importante d'alcools dérivés des sucres, dans presque toutes les espèces étudiées. La présence du mannitol est constante et celle de l'arabitol, assez fréquente. Ce dernier alcool est en effet rencontré dans la plupart des Lichens examinés.

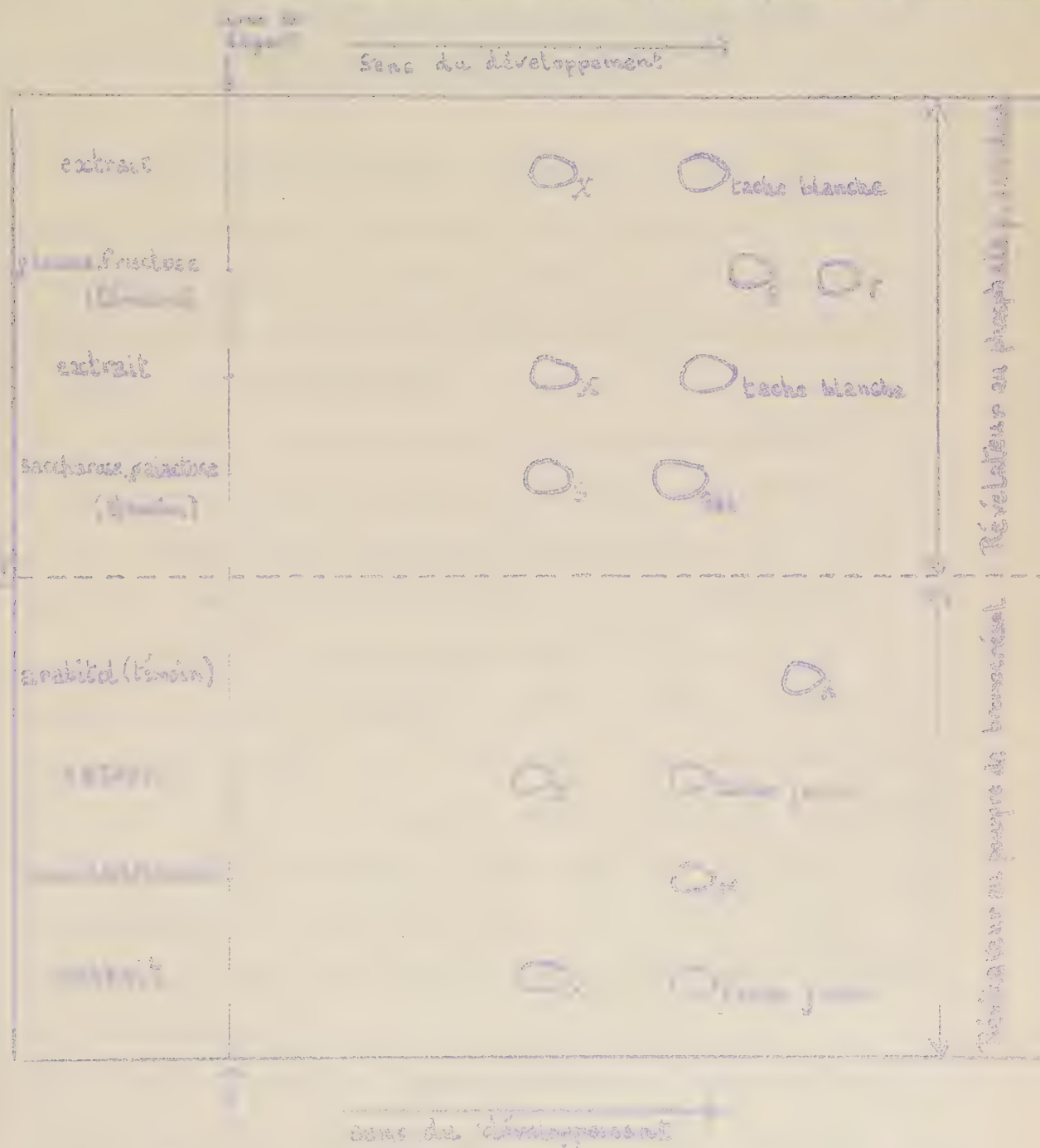
IDENTIFICATION DES POLYALCOOLS PAR CHROMATOGRAPHIE SUR PAPIER

L I C H E N S	MANNITOL	RABBITOL	AUTRES POLY- ALCOOLS NON IDENTIFIÉS
Peltigera horizontale	+	-	-
Cladonia impexa	+	+	+
Cladonia endiviaefolia	+	+	+
Umbilicaria pustulata	+	+	+
Gyrophora murina	+	-	+
Parmelia physodes	+	+	-
Parmelia saxatilis	+	+	-
Parmelia caperata	+	+	+
Evernia prunastri	+	+	-
Usnea comosa	+	+	+
Xanthoria marietina	+	+	-

- Révélateur de BRADFIELD et FLOOD. La présence des polyalcools est indiquée par le signe +

Chromatographie des polysaccharides de *Peltandra carolinensis* (Lamour.)

Révélation mixte (une partie du chromatogramme est révélée au réactif de
Benedict et l'autre partie au phosphomolybdique)



On note que la substance de RF identique à celui de saccharose, se révèle par les deux réactifs.

III - ESSAIS D'EXTRACTION ET DE PURIFICATION DE
CERTAINES SUBSTANCES GLUCIDIQUES
OU APPARENTEES AUX GLUCIDES.

Après l'identification par chromatographie sur papier des glucides solubles et des alcools dérivés des sucres, nous avons tenté, parfois avec succès, d'isoler et de caractériser à l'état cristallisé un certain nombre de ces constituants.

Nous nous sommes attaché, plus particulièrement, à préciser la nature du corps glucidique, rencontré en grande quantité chez Peltigera horizontalis. Non réducteur, non tributaire de la saccharase, de l'émulsine et de la tréhalase, ce corps possède un Rf voisin de celui du saccharose avec le solvant de HOUGH, JONES et WADMAN : Butanol - Ethanol - Eau - (31) dans les proportions de 4 - 1,1 - 1,9 . Nous avons vu que ce corps peut se révéler sur le chromatogramme, aussi bien par le réactif au phosphate de p-anisidine, que par celui au pourpre de bromocrésol, mais non par celui à l'urée (contrairement au saccharose).

Cette étude nous a permis en outre, de contrôler les résultats de nos analyses chromatographiques sur papier, en isolant un certain nombre de polyalcools (mannitol, arabitol) chez quelques Lichens (Peltigera horizontalis, Umbilicaria pustulata, Parmelia caperata

Cladonia impexa).

A - Extraction, isolement, purification et identification
du principe glucidique non réducteur
présent chez Peltigera horizontalis

Rappelons qu'au cours des dosages, examens polarimétriques et chromatographies des extraits aqueux, ce principe s'est révélé comme ayant les propriétés suivantes :

- soluble dans l'alcool chaud
- soluble dans l'eau
- non réducteur, mais devenant réducteur après hydrolyse acide
- non hydrolysable par la saccharase
l'émulsine
la tréhalase
- vraisemblablement fortement lévogyre
(les solutions aqueuses de Peltigera horizontalis, sont en effet, fortement lévogyres).
- comportement chromatographique sur papier avec un Rf voisin de celui du saccharose (solvant : butanol 4 - éthanol 1,1-eau 1,9) mais pas révélé par le réactif à l'urée.

a) Extraction.

Une masse de Lichen correspondant à 0,229 Kg de thalles secs de Peltigera horizontalis est fixée par l'alcool éthylique bouillant à 96° (G.L.) le jour même de la récolte. Après séparation sur büchner de l'alcool de fixation et des thalles, ceux-ci sont séchés et broyés finement pour être traités par l'alcool éthylique à 70°-75°, avec trois traitements successifs (de vingt minutes chacun) pour en extraire les glucides totaux. Après réunion des alcools de fixation et des alcools d'extraction, et concentration sous pression réduite à faible température de ces alcoolatures, le résidu est repris par l'eau distillée tiède afin d'obtenir un extrait aqueux.

b) Purification de l'extrait

1°) Traitement par fermentation alcoolique.

Cette fermentation a pour but d'éliminer les autres glucides, tels que glucose, fructose, saccharose, etc... présents en petites quantités. A cet effet, nous soumettons l'extrait à une fermentation ^à levure de bière (levure fraîche de boulangerie) selon la méthode ^{de} Donen. (22). Après s'être assuré que la fermentation est bien achevée (après quatre jours environ), on détruit les diastases en portant le flacon au bain-marie bouillant pendant cinq minutes;. L'extrait est alors centrifugé,

puis filtré.

2°) Défécation. La défécation a été effectuée avec de l'hydroxyde de plomb fraîchement préparé. Cet hydroxyde de plomb pulvérisé est ajouté à la solution. On agite longuement, on laisse déposer deux heures environ, puis on filtre sur büchner. L'excès de plomb est alors éliminé par un courant d'hydrogène sulfuré. On obtient ainsi un extrait parfaitement limpide.

3°) Déminéralisation. A cet effet, l'extrait est passé successivement sur deux colonnes d'échangeurs d'ions, la première contenant le Dowex 50 (résine cationique forte) et la seconde, l'Amberlite I R 45 (résine anionique faible), en laissant couler très lentement, afin de permettre une bonne fixation sur les résines des cations et des anions. Les résines sont lavées plusieurs fois à l'eau distillée. Les eaux de rinçage sont ensuite réunies à l'extrait déminéralisé.

4°) Contrôle de la présence du corps glucidique. Après ces différentes opérations, l'extrait est considérablement purifié. Nous avons vérifié qu'il contenait toujours la substance recherchée. Une chromatographie sur papier, révélée à la p-anisidine, montre alors que le R_f de la tache est toujours voisin de celui du saccharose. De plus, une lecture polarimétrique révèle que l'extrait est toujours fortement lévogyre. Donc on est autorisé à penser que des diverses purifications n'ont

pas entraîné de perte sensible du produit, ni altéré ses propriétés essentielles.

C) Cristallisation

L'extrait aqueux purifié, est concentré à petit volume, sous pression réduite et à faible température. Le résidu obtenu est jaune-clair et légèrement sirupeux. Il est repris à chaud, successivement par des alcools de différents titres en vue de cristallisations éventuelles (alcool absolu, alcool à 96° ; alcool à 80° ; alcool à 60°). Chaque fraction recueillie dans un cristallisateur est abandonnée à la température du laboratoire. Au bout de quelques jours, on s'aperçoit qu'une cristallisation s'amorce dans la fraction formée par l'alcool à 96° ; quelques jours suffisent pour laisser apparaître de fins cristaux en aiguilles disposées en oursins. Ceux-ci étant un peu colorés, il a fallu recristalliser la substance dans l'alcool à 96°. Cette dernière cristallisation nous donne, après 48 heures, de fines aiguilles blanches.

Après séchage à l'étuve à vide, à basse température, quelques cristaux sont chromatographiés sur papier. Révélé à la p-anisidine, le chromatogramme montre toujours la tache brun-rouge, dont le Rf est très voisin de celui du saccharose (solvant = butanol - éthanol - eau 4 - 1,1 - 1,9) : il s'agit donc bien là du corps recherché. Mais la chromatographie indique également

que ce corps n'est pas pur ; en effet, on aperçoit une tache blanche (couleur du papier intact) qui est vraisemblablement celle du mannitol (confirmé par une révélation au pourpre de bromocrésol).

Dès ce moment, une tentative de séparation par une autre méthode est apparue nécessaire. Aussi, après un dernier essai infructueux de cristallisation dans l'alcool à 96° (la substance étant toujours souillée de mannitol), nous avons pensé utiliser la chromatographie de partage sur colonne de poudre de cellulose, pour essayer de séparer les petites quantités de mannitol souillant notre substance.

d) Chromatographie sur colonne de poudre de cellulose.

1g. de substance, préalablement desséchée à basse température, est dissous dans 10cm³ d'eau distillée. Cette solution est malaxée avec 12g. de poudre de cellulose (Whatman n° 1 "Standard"). La pâte ainsi obtenue, est séchée à basse température, dans une étuve à vide à 50° environ, puis

D'autre part, on verse en tassant régulièrement 50g. de poudre de cellulose, dans un tube à chromatographie de 50cm. de hauteur sur 2,5 cm de diamètre.

On dispose ensuite les 12g. de cellulose finement pulvérisée, contenant le corps, en une couche homogène à la partie supérieure de la colonne de poudre de cellulose pure.

Le développement est alors réalisé, avec un mélange identique à celui employé pour la chromatographie sur papier, c'est-à-dire butanol-éthanol-eau, dans les proportions de 4 - 1,1 - 1,9.

De cette façon, nous transposons la chromatographie sur feuille de papier, à la chromatographie sur colonne de poudre de cellulose.

L'éluant doit s'écouler très lentement au bas de la colonne, le Rf du mannitol étant assez voisin de celui du corps recherché. Nous avons réglé le débit à 10cm³ à l'heure. Au total, 100 fractions de 10cm³ ont été recueillies (durée totale du développement, une centaine d'heures).

Chaque fraction a été soumise à une lecture polarimétrique et à la chromatographie sur papier. Les résultats combinés de ces deux examens, nous montrent que les premières fractions contiennent le mannitol seul, les fractions suivantes renferment le corps avec toute-fois un peu de mannitol, puis viennent enfin les

fractions avec le corps seul. Ces dernières fractions sont très fortement lévogyres, ce qui démontre, comme nous l'avions toujours supposé, que cette substance est bien lévogyre .

Ces dernières fractions contenant le corps seul, sont regroupées, concentrées à faible volume, puis reprises à chaud par l'alcool éthylique à 96° (G.L.), pour être abandonnées à la température du laboratoire. Après 24 heures, il apparaît une amorce de cristallisation et, deux jours plus tard, se forment de fines aiguilles blanches et soyeuses.

e) Caractérisations du corps.

Sur cette substance, nous avons procédé à une série de détermination qui nous a permis de déceler les propriétés suivantes.

1°) Solubilité dans les solvants classiques.

Ce corps est soluble dans l'eau et dans l'alcool éthylique chaud. Il est insoluble dans l'éther.

2°) Pouvoir rotatoire. Il a été déterminé sur la solution aqueuse, à une température de 20°C, par la raie D du sodium $[\alpha]_D^{20} = - 55^{\circ},5$.

3°) Point de fusion (bloc de Maquenne, banc de Köffler). Un point de fusion des cristaux a tout d'abord été établi au bloc de Maquenne : 164° (instantané) puis ensuite a été déterminé au banc de Köffler : 162° - 3° (instantané).

4°) Hydrolyse acide de cette substance. Soup-
çonnant la nature hétérosidique de ce corps, nous
l'avons soumis à une hydrolyse acide (SO_2H_2 à 4% au
bain marie pendant une heure et quart). Cette opération
rend la solution réductrice vis à vis de la liqueur
de Fehling. Le dosage du réducteur par la méthode de
BERTRAND, montre que ce corps libère environ 5p.100
d'hexose (évalué en glucose).

5°) Chromatographie sur papier (Whatman n° 1).
La chromatographie sur papier, après hydrolyse acide
et neutralisation par le carbonate de baryum, nous
donne nettement deux taches, celle du galactose et
celle du mannitol.

6°) Osazone. Le liquide d'hydrolyse traité par
la phénylhydrazine en solution acétique, laisse déposer
à froid des cristaux identiques à ceux de la galacto-
sazone obtenue en présence de mannitol.

L'ensemble de ces résultats nous montre déjà que le
corps étudié se compose de deux molécules unies entre
elles : une molécule de galactose et une molécule de
mannitol. C'est donc un hétéroside du galactose,
c'est-à-dire un galactosido-mannitol (47).

7°) Formule brute. En partant des considérations
précédentes, on peut établir que la formule brute de
ce corps doit être $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$. C'est-à-dire, que cette

substance contient 41,85% de carbone et 7,02% d'hydrogène. Or, l'analyse élémentaire par combustion nous a donné C : 42,02% ; H : 6,96%. Ces résultats sont très voisins de ceux que nous attendions. Ils vérifient donc la formule proposée ci-dessus.

8°) Poids moléculaire. Vraisemblablement, une seule molécule de mannitol est associée avec une seule molécule de galactose (le dosage du sucre réducteur libéré par hydrolyse semble confirmer cette supposition, ainsi que le changement de pouvoir rotatoire de la solution, observé après hydrolyse acide). Mais il était préférable de contrôler cette hypothèse, par la détermination du poids moléculaire. Des essais par la micro-méthode de RAST dans différents solvants (bornéol, camphre, exaltone), aboutissent à des résultats assez peu concluants. En effet, on a remarqué que, dans le bornéol à chaud, la substance se décompose sans se dissoudre et qu'elle se comporte pareillement dans le camphre. En outre, dans l'exaltone, il y a jaunissement sans dissolution.

f) Essai de séparation des deux constituants.

Afin d'établir avec certitude la formule de cette substance, il nous a paru utile de confirmer les résultats précédemment obtenus, par l'isolement des deux constituants de la molécule.

1°) Séparation du mannitol. Nous avons dissous 150 milligrammes de cristaux purs, dans 5 cm³ d'acide sulfurique à 4% et 20cm³ d'eau distillée. La solution a été placée au bain-marie bouillant pendant 1H.1/2, puis, neutralisée au carbonate de baryum, filtrée sur lit de "cellite" (Hyflo-super Cel) et lavée plusieurs fois. Nous avons complété à 50cm³ dans une fiole jaugée avec de l'eau distillée et mélangé ensuite à 10 grammes de cellite. L'ensemble est porté à l'étuve à vide pour évaporer l'eau. Séchée, puis pulvérisée, cette cellite est placée dans une cartouche de kumagawa et épuisée par trois extractions à l'acétone, dans un extracteur, pendant une journée. Les trois solutions acétoniques d'extraction sont réunies et concentrées à faible volume, puis abandonnées à la température du laboratoire. Après quelques temps, on constate que dans l'acétone il n'y a aucune cristallisation. Nous avons donc concentré jusqu'à sec, puis repris le résidu par l'alcool éthylique à 96° (G.L.) à chaud.

Au bout de 36 heures, des cristaux apparaissent . Il s'agit du mannitol. En effet : 1°) Ils ne sont pas réducteurs - 2°) Leur point de fusion déterminé au banc de Köffler donne 168° (168° pour le mannitol de référence^{et} 163°-164° pour le mélange du corps avec la substance de référence) - 3°) La chromatographie sur papier de ces cristaux montre bien la tache du mannitol.

2°) Caractérisation du galactose par l'acide mucique.

A cet effet, nous avons ajouté $2,4\text{cm}^3$ d'acide nitrique (densité 1,19) à 200mg. d'hétéroside pur et, placé l'ensemble au bain-marie bouillant pendant $2\text{H}.1/2$.

Un dépôt blanchâtre se forme au cours de l'hydrolyse.

Nous évaporons jusqu'à sec (environ 3 heures) au bain-marie. Repris par l'eaudistillée chaude, ce dépôt

blanc insoluble dans l'eau est recueilli sur filtre ;

il est alors lavé, essoré, puis séché à l'étuve à 60°

(étuve à vide). Le point de fusion de ce précipité

blanc est de 224° . Dans les mêmes conditions, un

acide mucique préparé à partir de galactose pur de

référence, montre un point de fusion de 224° . Nous

avons donc bien obtenu l'acide mucique à partir de

notre hétéroside, ce qui prouve qu'il contient du galactose.

Malgré cette nouvelle preuve de la présence du galactose, nous avons essayé d'obtenir ce galactose à l'état cristallisé, à partir de l'hétéroside lui-même.

3°) Obtention du galactose à l'état cristallisé.

Nous avons tenté d'extraire le galactose par chromatographie sur papier. 200 mg d'hétéroside cristallisé

ont été hydrolysés par l'acide sulfurique (par les

procédés habituels). La solution a été ensuite neutra-

lisée à l'Amberlite (Amberlite IR 45 : résine amionique),

puis concentrée à faible volume (environ 1cm^3). Cette

solution très concentrée, a été ensuite déposés sans discontinuité, tout le long de la ligne de départ d'un chromatogramme. Après séchage, un second, puis un troisième dépôt ont été réalisés dans les mêmes conditions.

Après développement et séchage à froid du chromatogramme, la chromatographie est révélée selon 3 bandes longitudinales, respectivement situées sur les bords latéraux de la feuille et au milieu (voir figure). Cette révélation est effectuée par le réactif à la p-anisidine et, sur un second chromatogramme, par le réactif au pourpre de bromocrésol. Cette révélation partielle permet de localiser les bandes de mannitol et d'hexoses disposées transversalement (voir figure). On observe après un très long développement (60H), que la séparation des 2 bandes n'est pas parfaite, une partie de la largeur de ces 2 bandes pouvant se chevaucher. Dans ces conditions, nous avons été amené à découper la bande contenant l'hexose, dans sa partie supérieure dépourvue de mannitol (voir figure 7).

Cette bande de papier, découpée en menus fragments, est épuisée d'abord par l'alcool éthylique à 96° froid, puis deux fois par l'alcool éthylique à 96° chaud. Ces diverses fractions alcooliques sont réunies, puis évaporées très lentement à froid (dessiccateur à vide). A la fin de la concentration (quelques jours) apparaissent quelques cristaux grisâtres.

Leur point de fusion déterminé au banc de Köffler est le suivant : Point de fusion des cristaux (première cristallisation) : 160°. Point de fusion du galactose de référence : 164°. Point de fusion du mélange des cristaux et du galactose de référence : 156°.

Ces cristaux étant très impurs, nous avons effectué une purification. Après une seconde cristallisation dans l'alcool éthylique à 96° (G.L.), on obtient des cristaux d'aspect plus propre, mais encore un peu gris (donc impurs).

Le point de fusion de ces cristaux (deuxième cristallisation) est de 162°. Point de fusion du galactose de référence : 164°. Point de fusion du mélange des cristaux et du galactose de référence : 160°.

Ces résultats sont plus satisfaisants que les précédents ; cependant, ils laissent penser que ces cristaux

d'hexose ne sont pas encore parfaitement purs. Malheureusement, les très faibles quantités dont nous disposions, ne pouvaient nous permettre d'envisager une troisième cristallisation.

Nous avons alors procédé aux déterminations suivantes :

- 1°) Un cristal de ce corps, dissous dans une goutte de liqueur de Fehling, donne à chaud, un peu de précipité d'oxydure de cuivre. Ce corps est donc bien réducteur.
- 2°) La chromatographie sur papier de la solution, obtenue en dissolvant dans une goutte d'eau, un cristal de ce corps et un peu de galactose de référence, ne donne qu'une seule tache.

Par conséquent, ce dernier caractère, joint aux différentes propriétés exposées plus haut, nous permet d'avancer que cet hexose est bien le galactose recherché.

Nous nous proposons de donner le nom de peltigeroside à ce nouveau corps hétérosidique.

CONCLUSION. Cette substance contenue dans Peltigera horizontalis est donc un hétéroside non décrit jusqu'ici (47), constitué par une molécule de galactose et une molécule de mannitol. La liaison doit se faire par le C₁ du galactose, puisque ce corps n'est pas réducteur. Nous appelons Peltigeroside ce galactosido-mannitol.

Ce corps est assez voisin de ceux trouvés par les

auteurs suédois : Umbilicine (galactose + arabitol) chez le Lichen Umbilicaria pustulata et un mannitol-monoglucoside (glucose + mannitol) chez l'Algue Fucus vesiculosus (37) par LINDBERG.

B - ESSAIS DE SEPARATION DES POLYALCOOLS DERIVES DES SUCRES
CHEZ QUELQUES LICHENS.

Les déterminations précédentes et, en particulier, les dosages et les analyses par chromatographie sur papier, ont montré l'importance quantitative des polyalcools chez les Lichens (4,92 p.100 d'alcools totaux chez Cladonia endivaeifolia, 4,21 p.100 chez Evernia prunastri, etc...).

Nous avons tenu à vérifier nos identifications obtenues par chromatographie sur papier, en isolant quelques-unes de ces substances. Nous nous sommes plus spécialement intéressé aux polyalcools des Lichens suivants :

Umbilicaria pustulata

Parmelia caperata

Cladonia impexa

Peltigera horizontalis.

Umbilicaria pustulata

a) Techniques utilisées : Chromatographie sur
poudre de cellulose.

1°) Préparation de l'extrait à chromatographier.

Nous avons effectué l'extraction par l'alcool éthylique à 80° (G.L.) par trois traitements successifs de vingt minutes chacun. Après concentration sous pression réduite des alcoolatures, le résidu sirupeux est repris par l'eau.

L'extrait aqueux ainsi obtenu est soumis à une fermentation, en vue d'éliminer le glucose et le saccharose (après avoir vérifié que les petites quantités de levure utilisées ne contenaient pratiquement pas de polyalcools).

Après fermentation, l'extrait est déféqué par l'hydroxyde de plomb, puis filtré à l'élimination de l'excès de plomb est réalisée par l'hydrogène sulfuré (courant d' H_2S).

Une déminéralisation de la solution est effectuée par passage, d'abord sur résine cationique (colonne de Dowex 50), puis sur résine anionique (colonne d'Amberlite IR₄₅). La solution aqueuse ainsi purifiée, est concentrée et amenée à un volume réduit jusqu'à la limite de la concentration sirupeuse.

Ce résidu aqueux est mélangé intimement avec de la poudre de cellulose jusqu'à l'obtention d'une pâte très homogène. Cette pâte est séchée, puis pulvérisée le plus finement.

possible, afin de retrouver le grain initial de la cellulose.

2°) Préparation de la cellulose. La colonne a été préparée comme il a été décrit précédemment (page 56), mais, les extraits à chromatographier étant beaucoup plus importants, il nous a fallu prévoir un tube de plus grandes dimensions. Cette colonne est en pyrex, munie à sa partie inférieure d'un robinet (voir page 56), longue de 120cm et d'un diamètre de 6cm. Elle reçoit, sur 50cm de hauteur, de la poudre de cellulose "Whatman" n° 1 type "Standard", très régulièrement tassée, puis au dessus, la cellulose séchée et pulvérisée contenant l'extrait (toujours régulièrement tassée) ; la hauteur de cette couche est de 5 cm (dispositif analogue à celui de la page 56).

3°) Développement de la chromatographie.

Le mélange développant utilisé est le même que celui employé pour la chromatographie sur papier, c'est à dire : butanol 4 - éthanol 1,1 - eau 1,9 -.

L'éluant s'écoule très lentement au bas de la colonne : environ 100 cm³ par jour. Les fractions recueillies sont de 30 à 35 cm³ environ, ce qui fait approximativement trois fractions par jour. Nous avons obtenu une centaine de fractions.

4°) Contrôle des fractions. Chaque fraction

a été chromatographiée sur papier (révélateurs : phosphate de p. anisidine, réactif à l'urée, pourpre de bromocrésol).

b) Résultats.

1°) Les premières fractions. Elles contiennent un corps, dont la tache par chromatographie sur papier est placée comme celle de l'arabitol. Les fractions voisines, de composition identique, sont réunies et abandonnées à une éventuelle cristallisation. Celle-ci se manifeste après un temps assez long, des cristaux sous forme de fines aiguilles blanches finissant pas se déposer. Ces fractions sont recristallisées dans l'alcool éthylique à 96° (G.L.). On obtient de beaux cristaux blancs, dont le point de fusion au bloc de Maquenne est voisin de 103°.

Cette substance n'est pas réductrice. Son pouvoir rotatoire est à peu près nul. Chromatographiée sur papier, mélangée avec de l'arabitol, elle ne montre qu'une seule tache. C'est donc de l'arabitol.

2°) Les secondes fractions. Ces fractions montrent deux taches sur le chromatogramme, l'une au niveau de l'arabitol et l'autre au niveau du mannitol. Regroupées, ces fractions donnent d'ailleurs à la cristallisation, un mélange de ces deux corps.

3°) Les troisièmes fractions. Elles montrent sur les chromatogrammes, la présence du mannitol seul. Regroupées, concentrées puis, reprises par l'alcool éthylique à 96°, elles donnent des cristaux de mannitol.

Une recristallisation permet d'obtenir ce corps, à l'état pur. Il se montre sous l'apparence de cristaux blancs, fins et soyeux. Le point de fusion au bloc de Maquenne est de 160°-161°. L'analyse C% H% nous donne : C 39,54% ; H 7,35% (théorique C 39,56% ; H 7,74%).

Ces cristaux ne sont pas réducteurs. Ils ne donnent pas d'osazone. Chromatographiés avec un peu de mannitol, on obtient une seule tache révélée par le pourpre de bromocrésol. C'est donc bien le mannitol que nous avons ici.

4°) Les dernières fractions évaporées et reprises par l'alcool donnent des solutions lévogyres. Elles n'ont pas abouti à une cristallisation. Peut-être s'agit-il de l'umbilicine des auteurs suédois, plus ou moins mélangée à des polyalcools et en particulier à du mannitol. Etant donné que l'umbilicine a été isolée et décrite par LINDBERG, nous n'avons pas poursuivi nos essais de purification en vue de l'obtenir à l'état cristallisé.

Parmelia Caperata

a) Techniques utilisées.

1°) Préparation de l'extrait à chromatographier.

Nous avons utilisé les mêmes techniques que pour Umbilicaria pustulata, ce mode opératoire nous ayant donné de bons résultats.

2°) Réalisation de la chromatographie. La préparation de la colonne, l'élution et la détermination chromatographique de chaque fraction recueillie, sont en tous points semblables à ce qui a été exposé précédemment

b) Résultats.

1°) Les premières fractions. Après identification par chromatographie sur papier, regroupement des fractions à propriétés communes et cristallisation nous obtenons de l'arabitol.

Celui-ci a été cristallisé dans l'alcool éthylique à 96° (G.L.). Les cristaux (aiguilles groupées en oursins) ont un point de fusion de 101°-102° au bloc de Maquenne. Le point de fusion de la substance de référence (arabitol pur) est de 101°-103° et celui du mélange (cristaux et substance de référence mélangés

à parties égales) est de 99-101° au micro-bloc de Köffler. C'est bien de l'arabitol que nous avons isolé ici.

2°) Le second groupe de fractions.

Chaque fraction donne deux taches sur le papier Whatman, l'une, au niveau de l'arabitol et l'autre, au niveau du mannitol ; ce qui nous montre que, pour cette série, la séparation n'est pas efficace, mais il y a très peu de fractions (3 ou 4).

3°) Le troisième groupe de fractions.

Ces fractions donnent une seule tache au niveau du mannitol; elles sont peu nombreuses. Regroupées, concentrées et reprises par l'alcool éthylique à 96°, elles laissent déposer des cristaux, mais en si faible quantité, que nous n'avons pu réaliser les analyses indispensables à leur détermination.

La chromatographie sur papier montre, cependant, qu'il s'agit du mannitol.

Cladonia impexa.

a) Techniques utilisées.

Elles sont identiques à celles utilisées pour Umbilicaria pustulata et pour Parmelia caperata.

b) Résultats.

1°) Les premières fractions. La chromato-

graphie sur papier nous montre la présence de l'arabitol dans les premières fractions. Après regroupement de toutes les fractions de cette première série, nous avons tenté d'isoler cet arabitol, mais sans aucun résultat, la quantité de ce corps étant trop faible.

2°) Les secondes fractions. Comme pour les

cas précédents, ces fractions donnent par chromatographie sur papier, les deux taches caractéristiques, celle du mannitol et celle de l'arabitol. Les fractions contenant ce mélange sont assez peu nombreuses (4 ou 5).

3°) Les troisièmes fractions. Elles ne

donnent qu'une seule tache, au niveau du mannitol. Regroupées, elles ne tardent pas à donner, au bout de quelques jours, des cristaux encore impurs. Deux cristallisations dans l'alcool éthylique sont alors nécessaires, pour obtenir de beaux cristaux en fines aiguilles blanches.

Leur point de fusion au bloc de Maquenne est de 164° et, au micro-bloc de Köffler, de 162°-164°. Le point de fusion de la substance de référence (mannitol pur) est de 165°-166° et celui du mélange (cristaux et

mannitol de référence) est de 164°-166°.

Ce corps n'est pas réducteur. L'analyse C% H% donne C 39,30% ; H 7,95% (Théorique C 39,56% ; H. 7,74%). Ce corps mélangé avec un peu de mannitol pur de référence et chromatographié sur papier ne donne qu'une seule tache. Nous avons donc bien isolé le mannitol à l'état pur.

Peltigera horizontalis.

a) Techniques utilisées.

1°) Préparation de l'extrait à chromatographier. Nous avons utilisé la même méthode que pour les Lichens précédents (voir plus haut les techniques utilisées).

2°) Préparation de la colonne. Ayant beaucoup moins de matériel végétal, c'est à dire de thalles (pour les autres chromatographies, nous avons entre 1 Kg et 1 Kg 1/2 de thalles secs, mais pour cette chromatographie, nous n'avons pu récolter que 229g. de Peltigera horizontalis), nous avons dû utiliser une colonne à chromatographier plus petite. Les techniques de préparation sont les mêmes que pour la chromatographie décrite à la page 56 .

3°) Développement de la chromatographie.

Les solvants utilisés sont également les mêmes que ceux

utilisés pour les autres chromatographies et dans les mêmes proportions (butanol 4, éthanol 1,1, eau 1,9).

4°) Contrôle des fractions. Ici, étant donnée la présence de l'hétéroside lévogyre (Peltigeroside), deux modes de contrôle ont été utilisés, à savoir : lectures polarimétriques et chromatographies sur papier. Ces deux déterminations nous permettent de porter un jugement sommaire, mais rapide et suffisant, sur le contenu de chacune des fractions.

b) Résultats.

1°) Les premières fractions. Sur le papier Whatman, nous voyons apparaître une tache semblable à celle du mannitol. Les fractions sont rassemblées par petits groupes de trois ou quatre et concentrées ainsi, presque jusqu'à sec ; reprises par l'alcool éthylique chaud à 96° (G.L.), elles sont ensuite abandonnées à la température du laboratoire (18°-20°) en vue d'une éventuelle cristallisation. Celle-ci ne tarde pas à s'amorcer ; en effet, au bout de quelques jours, apparaissent des cristaux dans toutes les fractions ; ces cristaux sont à différents stades de pureté. Ils sont recristallisés dans l'alcool éthylique à 96°.

Au bout de deux jours, la nouvelle cristallisation montre de fins cristaux blancs et en plus forte quantité. Leur pouvoir rotatoire est nul et leur point de fusion se situe (selon les fractions) entre 164° et 166° au banc de Köffler. Ils ne sont pas réducteurs. Nous avons bien là du mannitol.

2°) Les deuxièmes fractions. Les tests sur papier de ces fractions montrent deux taches qui semblent être le mannitol et le corps glucidique lévogyre. Chaque fraction est un mélange de peltigeroside et de mannitol.

3°) Les troisièmes fractions. Après les fractions précédentes peu nombreuses et possédant deux corps, nous obtenons assez rapidement une importante série de dix fractions environ, montrant sur le chromatogramme une tache au niveau du saccharose (réactif au phosphate de p-anisidine) conjointement à une lecture polarimétrique fortement lévogyre.

Toutes ces fractions contiennent l'hétéroside, dont nous avons vu les caractéristiques page 58 et suivantes.

4°) Les quatrièmes fractions. Les tests sur papier de ces fractions, montrent deux taches qui semblent être celle du galactoside et celle d'un polyalcool

(dont nous n'avons pu déterminer la structure exacte). Cristallisées, ces fractions montrent, par ailleurs, des points de fusion nettement: différents.

5°) Les cinquièmes fractions. Cette cinquième série semble donner quelques cristaux ; une chromatographie, effectuée sur papier Whatman, avec ces cristaux et des polyalcools de référence, semble donner un Rf assez voisin de celui du volémitol. Mais, les quelques cristaux que nous avons obtenus (impurs) ne nous permettent pas de poursuivre la purification. Nous ne pouvons donc rien dire de certain sur la nature de ce polyalcool.

CONCLUSION.

Les techniques de chromatographie sur poudre de cellulose, associées à la cristallisation fractionnée, nous ont donc permis d'isoler et d'obtenir à l'état cristallisé :

a) Un nouveau corps : pel-tigeroside (mannitol + galactose). Cet hétéroside, soluble dans l'eau, non réducteur et fortement lévogyre, est

voisin de l'umbilicine

(arabitol + galactose). Il existe en grande quantité chez Peltigera horizontalis (4,80p.100 pour un Lichen prélevé au printemps.

b) Des polyalcools : arabitol et mannitol - L'arabitol, isolé à partir de Parmelia caperata, n'avait pas été trouvé jusqu'à présent dans ce Lichen ; à notre connaissance, il en est de même du mannitol, que nous avons isolé (pour la première fois) à partir de Cladonia impexa.

CONCLUSIONS DE LA PREMIERE PARTIE .

Les résultats de nos travaux, exposés précédemment, nous permettent d'avancer que les Lichens présentent une composition glucidique complexe :

- des oses.
- des osides.
- des hétérosides particuliers (dont l'aglycone est un polyalcool).
- des polyalcools dérivés des sucres.

- Les oses trouvés sont le glucose, le fructose et le galactose. Ils existent en petites quantités chez la plupart des Lichens.

- Les holosides sont le saccharose et très vraisemblablement le tréhalose. Eux aussi existent en petites quantités (surtout le saccharose).

- De nos travaux et de ceux des auteurs précédents, il ressort que ces hétérosides ont le plus souvent, comme aglycone un polyalcool dérivé des sucres (l'arabitol dans l'umbilicine et le mannitol dans le

peltigeroside), et qu'ils possèdent, d'autre part le même ose (le galactose).

Il en résulte que ces substances ont une structure très voisine de celles des diholosides. Ceci explique peut-être pourquoi le comportement chromatographique du peltigeroside (voir page 50 bis) est très voisin de celui du saccharose (les R_f sont identiques dans le solvant de HOUGH, JONES et WADMAN).

Les hétérosides existent parfois en très fortes proportions ; ils peuvent atteindre un pourcentage de l'ordre de 5 p.100.

- Le plus souvent, la masse principale des substances glucidiques solubles et apparentées, est représentée par les polyalcools. En effet, ceux-ci sont souvent abondants (de 1,7 à 4,9 p.100) chez les Lichens étudiés.

Il faut rappeler que les Champignons, eux aussi, sont riches en ces substances.

On peut penser, que la composition glucidique complexe des Lichens est la conséquence de la symbiose de deux êtres qui composent le Lichen ; le glucose, le fructose et le saccharose sont les glucides provenant vraisemblablement de l'Algue (Algues vertes). Les polyalcools peuvent résulter plus particulièrement du Champignon, de même que le tréhalose ; mais nous

avons vu aussi, que certaines Algues sont capables, d'élaborer ces substances. Enfin, les hétérosides particuliers proviennent vraisemblablement de l'Algue, puisque des corps de ce groupe ont été isolés à partir des Algues, par les auteurs suédois (le mannitol-glucoside dans Fucus vesiculosus et le volémiol-glucoside dans Pelvetia canaliculata ▾ (37) (38).) Notons cependant que les deux hétérosides trouvés jusqu'ici dans les Lichens sont des galactosides.

Il nous reste à préciser quelles sont les variations quantitatives, que peuvent subir ces différents constituants, au cours de la vie des Lichens, qui se déroule parfois dans des conditions très spéciales de milieu (sècheresse, grande insolation, froid, etc...). C'est ce que nous allons préciser dans la seconde partie de notre travail.

DEUXIEME PARTIE

VARIATIONS DE LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES ET EN POLYALCOOLS EN FONCTION DES CONDITIONS DE VIE DES LICHENS.

INTRODUCTION .

Quelques dosages de glucides sur Umbilicaria pustulata, prélevé à différentes époques et au même endroit (sur un rocher de la forêt de Fontainebleau), nous ont montré rapidement, que la teneur en sucres semblait varier selon l'époque de prélèvement.

Nous avons été amené à penser que les variations dans les conditions extérieures (température, luminosité, humidité, etc...), devaient avoir un retentissement sur la teneur en glucides chez les Lichens.

Dès lors, il nous a paru intéressant de préciser, dans la mesure du possible, l'importance des fluctuations du contingent glucidique chez les Lichens, en fonction des différents facteurs externes : température, lumière, humidité etc...

En premier lieu, nous avons suivi sur une année

de végétation, les variations de la teneur en glucides chez un Lichen, commun de la forêt de Fontainebleau :

Umbilicaria pustulata.

Nous avons ensuite essayé d'analyser l'action particulière de quelques facteurs externes : température et humidité, chez différents Lichens.

I - VARIATIONS DE LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES ET EN
POLYALCOOLS CHEZ UMBILICARIA PUSTULATA AU COURS D'UNE
ANNEE DE VEGETATION.

Nous avons dosé les glucides solubles et les polyalcools dérivés des sucres, dans les thalles d'Umbilicaria pustulata, fixé sur un rocher situé dans la forêt de Fontainebleau, près du carrefour "Belle croix". Sur ce rocher, il existait une colonie très dense d'Umbilicaria pustulata.

A différentes époques de l'année, nous avons récolté des lots d'environ 100g. de Lichens frais, sur ce rocher. Nous avons réalisé cette récolte en prélevant chaque lot par quart ($1/4$) ; chaque quart étant détaché d'une face déterminée du rocher. Nous pensons avoir obtenu ainsi, un échantillonnage représentatif de l'ensemble de la population située sur ce rocher.

Deux heures après la récolte (le temps de rentrer au Laboratoire), les Lichens étaient fixés dans l'alcool bouillant..

A - VARIATIONS DES GLUCIDES SOLUBLES.

a) Exposé des techniques de dosage.

1°) Préparation des extraits - Nous avons utilisé la méthode classique de Bourquelot-Bridel pour la préparation de nos extraits. Cette méthode biochimique a été employée et décrite précédemment (page 27).

2°) Dosages proprement dits - A partir de cet extrait aqueux contenant les glucides solubles, nous avons dosé en premier lieu les oses libres, par la méthode de Bertrand. Ensuite, nous avons soumis cet extrait à diverses actions diastasiques permettant de doser, d'abord, les α -glucosides tributaires de la "saccharase" (invertine de la levure), puis les hétérosides β tributaires de l'émulsine (émulsine des amandes) (Ceux-ci étant absents, ou n'existant qu'en très faible quantité, leur teneur n'a généralement pas été mentionnée dans nos tableaux), puis le tréhalose par action de la tréhalase (tréhalase du sucre gastrique d'escargot) et enfin, l'ensemble des glucides solubles totaux par hydrolyse acide (ici, l'acide sulfurique).

On trouvera d'ailleurs plus haut (pages 29 et 30), ces opérations successives décrites plus en détail.

3°) Pouvoir rotatoire - Toutes les solutions aqueuses d'Umbilicaria pustulata ont été soumises à une lecture polarimétrique, afin d'établir la rotation optique de chacune d'elles. Ce pouvoir rotatoire nous donne souvent de précieuses indications, quant à l'identification rapide des corps glucidiques existant dans ces extraits.

4°) Chromatographie sur papier. - La nature des glucides présents à toutes les périodes de l'année, a été déterminée par chromatographie sur papier. Les révélateurs employés sont les mêmes que pour les chromatographies précédentes (p-anisidine et urée).

b) Résultats.

Les données numériques, consignées dans le tableau n° 5 et la figure 8, montrent une variation importante de la teneur en glucides solubles totaux au cours de l'année.

On observe un maximum qui se situe l'été aux mois de juillet-août et un minimum l'hiver, en janvier-février. On remarque donc une chute sensible à l'automne se situant en septembre-octobre, pour les glucides solubles totaux.

Cette variation de la teneur des glucides solubles totaux résulte essentiellement d'une élévation marquée, en été, du taux des hétérosides (umbilicine principalement)

VARIATIONS DES GLUCIDES SOLUBLES AU COURS D'UNE ANNEE

POURCENTAGE DE REDUCTEURS, EXPRIME EN GLUCOSE, POUR CHAQUE CATEGORIE DE GLUCIDES SOLUBLES (g. de glucose pour 100g. de matière sèche)

	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septemb.	Octobre	Novemb.	Décembre
oses	0,12	0,17	0,12	0,15	0,18	0,17	0,16	0,15	0,17	0,17	0,16	0,55
holosides (saccharose)	0,15	0,21	0,23	0,50	0,50	0,55	0,27	0,32	0,26	0,28	0,16	0,16
TRÉHALOSE ET éventuellement GLUCOSIDES β	0,10	0,13	0,17	0,15	0,21	0,23	0,57	0,65	0,19	0,24	0,41	0,17
heterosides (lambillicine)	1,38	1,22	1,03	0,96	1,28	1,73	1,98	1,99	2,12	1,24	0,82	1,01

On suppose que la différence entre le taux des sucres totaux et le taux des sucres obtenus après l'action des différentes actions diastasiques, représente

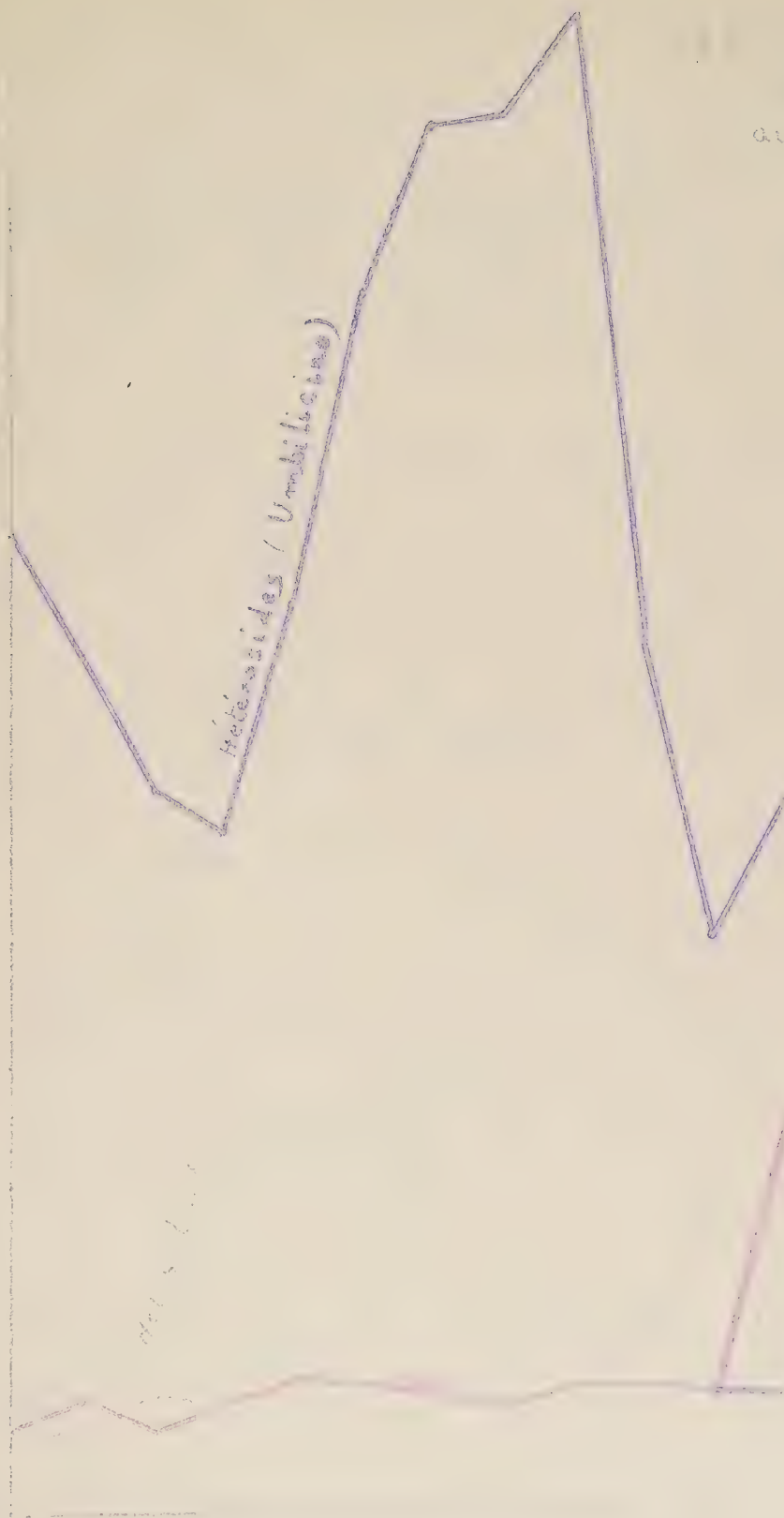
pourcentage de cl

in milieu

1965-1966

Hétérozygotes (Umbilicatus)

au cours de l'année



et des holosides tributaires du suc d'esqargot (tréhalase), c'est à dire le tréhalose, dans une plus faible mesure, le saccharose semble culminer un peu plus tôt (en juin).

On observe enfin, une évolution peu significative des sucres réducteurs libres, sauf en décembre où le taux de ces glucides est nettement plus élevé.

Cette étude nous a donc permis de mettre en évidence deux variations importantes du taux des glucides solubles chez Umbilicaria pustulata au cours de l'année.

Le maximum observé en été portant essentiellement sur l'umbilicine et, dans une plus faible mesure sur les holosides (saccharose en particulier), peut s'expliquer par le fonctionnement intense et prolongé de l'assimilation chlorophyllienne (longue photo-période).

B - VARIATIONS DES POLYALCOOLS TOTAUX.

a) Techniques de dosage.

1°) Préparation de l'extrait. L'extrait aqueux est préparé comme précédemment, pour l'étude des glucides solubles totaux. Il est ensuite utilisé directement, avec ou sans défécation, pour le dosage des polyalcools totaux.

2°) Dosages proprement dits . La méthode de dosage global des polyalcools totaux selon CAMERON, ROSS et PERCIVAL, basée sur l'oxydation périodique de ces polyalcools et décrite plus haut, a été employée avec succès. Chaque dosage a été au moins répété deux fois.

3°) Chromatographie sur papier. Afin de s'assurer de la présence constante des polyalcools, nous avons réalisé quelques chromatographies sur papier, avec le mélange développant de HOUGH, JONES et WADMAN (butanol 4 ; ethanol 1,1 ; eau 1,9) et le révélateur de BRADFIELD ET FLODD (mélange de pourpre de bromocrésol en présence d'un tampon acide borique-borate). Tous ces détails ont été exposés dans la première partie.

- TABLEAU N° 7 -

VARIATIONS DE LA TENEUR EN POLYALCOOLS
PENDANT 1 AN (UMBILICARIA PUSTULATA)

POURCENTAGE DES POLYALCOOLS TOTAUX, EXPRIME EN
MANNITOL (g. de mannitol pour 100g. de matière sèche).

Fin de l'hiver	AVRIL	2,63
Fin du printemps	JUIN	4,20
Fin de l'été	SEPTEMBRE	3,45
Fin de l'automne	DECEMBRE	2,30

b) Résultats.

Nous remarquons surtout un maximum du taux des polyalcools au début de l'été, principalement fin juin-début juillet.

Une chute assez brusque en automne, (mais cependant moins brutale que celle des sucres), nous conduit à une faible teneur en polyalcools totaux en hiver.

Comme on le remarque dans la courbe Fig. 10 (page 95), c'est en effet au mois de janvier que les Lichens sont les plus pauvres en polyalcools dérivés des sucres.

Conclusion : Il est à noter que les teneurs maximales s'observent à la belle saison, comme c'est le cas pour les glucides solubles. Ceci laisse penser que polyalcools et glucides solubles forment un ensemble de substances, dont le métabolisme est intimement lié. D'ailleurs, la figure n°11 montre bien que les glucides solubles totaux et les polyalcools totaux ont une évolution sensiblement parallèle.

Nous rapprocherons de nos résultats, ceux qui ont été obtenus par RIQUIER (57) qui, en étudiant les variations de la teneur en polyalcools en fonction des saisons, chez l'Algue Pelvetia canaliculata,

constate également un maximum pendant l'été (mannitol et volémitol). A ce sujet, RIQUIER pense que la sécheresse (observée sur Pelvetia) doit avoir une influence sensible sur la teneur en polyalcools ; en effet, il remarque que la déshydratation fait baisser, légèrement et momentanément, les taux de mannitol et de volémitol.

II - INFLUENCE DE L'ANHYDROBIOSE SUR LES GLUCIDES SOLUBLES.

Si on soumet une plante à une dessiccation progressive, elle passe lentement à un état de vie ralentie : l'intensité respiratoire et l'intensité de la photosynthèse deviennent de plus en plus réduites.

On connaît assez peu les phénomènes physiologiques qui se manifestent durant l'anhydrobiose. On sait que les végétaux s'adaptent à la sécheresse par une série de modifications morphologiques accompagnées de profonds changements du métabolisme.

Si les phanérogames résistent assez mal à la sécheresse (la perte en eau pouvant atteindre néanmoins 75p.100 chez les Xérophytes), les cryptogames sont nombreux à pouvoir supporter une dessiccation ; c'est notamment le cas des Mousses (46), de certaines Algues (23) et des Lichens.

La facilité qu'offrent les Lichens à se dessécher est due, sans doute, à la grande masse d'eau emmagasinée dans les membranes des hyphes, dans la gelée des gonidies, dans les lacunes du thalle (et non dans les cellules, comme chez les plantes vasculaires).

Soumis à une déshydratation progressive jusqu'à atténuation de leurs principales fonctions, les Lichens reprennent très vite leur vie normale, si de l'eau leur est ensuite donnée (phénomène de reviviscence). DES ABBAYES fait remarquer que cette faculté de reviviscence est un corollaire obligatoire du manque de pouvoir rétenteur vis à vis de l'eau (1) ; les Lichens présentent le phénomène de reviviscence au plus haut degré. Mais le temps pendant lequel ils peuvent être privés d'eau ne paraît pas très grand. JUMELLE a soumis pendant 3 mois à la dessiccation des Cladonia, Ramalina et Usnea ; il a observé que l'assimilation était nulle et que la respiration était très diminuée, quand il a redonné de l'humidité à ces Lichens (32).

La résistance à la dessiccation varie d'une espèce à l'autre, mais en général, les Lichens sont assez bien adaptés pour résister à une sécheresse de moins de 3 mois. On pense que, pendant ce temps relativement court, ces organismes peuvent se déshydrater presque totalement (on sait que l'anhydrobiose totale n'existe pas) pour reprendre ensuite, sans grand dommage, leur forme et leur vie initiale, déshydratation (reviviscence).

A cet effet, nous avons tenu à étudier les répercussions possibles de la déshydratation des tissus en anhydrobiose sur la composition glucidique des Lichens. La teneur en glucides a été suivie pendant la

dessication lente et progressive des Lichens suivants :

Umbilicaria pustulata et Cladonia impexa récoltés tous

deux en forêt de Fontainebleau, l'un sur rocher et

l'autre sur terre de bruyère.

A - ESSAIS DE COURTE DUREE (3 semaines).

a) Exposé du dispositif d'installation.

La récolte de ces deux Lichens, au mois de mai, a été réalisée après une période de précipitations atmosphériques assez importantes. Les Lichens sont répartis en plusieurs lots homogènes et de même poids ; ils sont placés ainsi, dans différentes caisses étanches (voir le schéma d'installation Fig. 12 p.103), afin d'y subir une déshydratation progressive.

Chaque dispositif est constitué par une caisse en "isorel" de forme parallélépipède-rectangle, ayant pour dimensions : 1 mètre de longueur, 25 cm de largeur, 20cm de hauteur. Une plaque de verre, faisant fonction de couvercle, garnit la face supérieure (voir schéma p.103). L'ensemble est rendu étanche par la présence de garnitures en caoutchouc sur les bords de la face supérieure. Des presses à vis maintiennent constamment la plaque de verre en contact avec les rebords en caoutchouc.

La dessiccation est obtenue par passage à travers ce dispositif, d'un lent courant d'air, préalablement déshydraté. La déshydratation de l'air, avant son entrée dans la caisse, est réalisée par passage sur colonne à dessiccation remplie de "Silicagel", prépa-

ration commerciale de sels de cobalt capable d'absorber une importante quantité d'eau, et par barbotage dans l'acide sulfurique (voir les détails, dans l'installation fig. 12 p.103). L'air est poussé dans l'enceinte par un moteur à vibreur constant. A l'intérieur de ces caisses, on a disposé deux ou trois boîtes de Petri garnies d'une couche de "silicagel", cette substance absorbant lentement l'eau dégagée par les Lichens.

L'éclairage est assuré par des rampes " Mazda fluor " type "lumière du jour". Ces tubes ont un mètre de longueur et 5cm de diamètre (100x5). Ces lampes fixées sous des réflecteurs, ont été montées sur un chassis de fer, dont la hauteur est réglable. La distance entre les tubes fluorescents et le fond des caisses a été fixée à 40cm. environ. Les lampes donnent un éclairage d'environ 4.000 lux. La photopériode est de 10 heures par cycle de 24 heures.

Les températures maximales et minimales ont été relevées quotidiennement. La température du laboratoire a été en moyenne de 21° pour le jour et de 14°-15° pour la nuit, ce qui nous donne une moyenne de 18° environ pour toute la durée de l'expérience.

Parallèlement, des lots de Lichens, identiques ont été disposés près de ces caisses, mais à l'extérieur de celles-ci . Ces lots périodiquement arrosés servent de témoins.

b) Mode expérimental.

1°) Préparation des extraits. La déshydratation a été suivie, par pesées périodiques des différents lots entreposés dans les caisses. Après des séjours plus ou moins prolongés dans ces caisses, les lots sont sortis et fixés immédiatement dans l'alcool éthylique à 96° bouillant. Parallèlement, des lots "témoins" sont stabilisés par l'alcool dans les mêmes conditions. La préparation des extraits a été réalisée par les méthodes classiques décrites antérieurement.

2°) Dosages. Nous avons utilisé pour cette série d'examen les techniques de dosage décrites plus haut.

c) Résultats.

(voir tableaux 8 et 9).

EXPERIENCES REALISEES AVEC UMBILICARIA PUSTULATA

- TABLEAU N° 8 -

ANHYDROBICSE DE COURTE DUREE AVEC UMBILICARIA PUSTULATA					
	DOSAGES (précision 5%)	Début	Après 4j.	Après 10j.	Après 20j.
Lots déshydratés	Sucres réduct. libres	0,26	0,20	0,21	0,27
	S. réd. dosés après act. de l'invertine	0,92	1,04	1,08	1,02
	S. réd. totaux après hydrolyse acide	2,23	2,12	2,26	2,19

- TABLEAU N° 9 -

LOTS TEMOINS (UMBILICARIA PUSTULATA)					
	DOSAGES (précision 5%)	Début	Après 4j.	Après 10j.	Après 20j.
Lots témoins	Sucres réducteurs libres	0,26	0,27	0,24	0,29
	S. réd. dosés après action de l'invertine	0,92	1,06	1,00	1,08
	S. réd. totaux après hydrolyse acide	2,23	2,10	2,07	1,66

On notera que les Lichens, à l'époque de ces prélèvements (mai), sont relativement pauvres en glucides solubles ; ce que nous avons déjà observé l'année précédente, au cours d'une autre série de dosages (voir page 38).

On remarque surtout que la déshydratation n'a aucune influence sensible sur la teneur en glucides solubles totaux, ni sur les sucres réducteurs libres (les différences observées ne sont pas toujours significatives, car les dosages ici portent sur de très petites quantités d'oses).

On note également, que la dessiccation n'influe pas non plus sur les holosides tributaires de l'invertase (saccharose dans le cas présent), ni sur les hétérosides (essentiellement ici l'umbilicine). La teneur en glucides observée avant l'expérience se conserve donc pendant l'anhydrobiose.

Au contraire, pour les lots soumis à une hydratation constante (témoins), il semble que l'éclairement relativement faible utilisé dans nos expériences, ne permette pas une photosynthèse susceptible de compenser la consommation des glucides due à la respiration. On observe en effet, une diminution assez sensible de la teneur en sucres solubles totaux. Il semble d'ailleurs, d'après le tableau (n° 9) que ne soient ni les oses, ni le saccharose qui sont atteints, mais plutôt les hétérosides.

B - ESSAIS DE LONGUE DUREE (3 mois)

a) dispositif d'installation.

C'est également en période de précipitations atmosphériques (automne), que furent récoltés ces Lichens servant à l'expérience d'anhydrobiose de longue durée.

Les sujets sont répartis : en plusieurs lots homogènes, à raison de trois par caisse, comme pour l'expérience de courte durée. Ces caisses font partie de l'installation que nous avons exposée dans les essais de courte durée et dont les détails sont rassemblés dans le schéma de la page 103 (Fig. 12).

b) Mode expérimental.

Après différentes durées d'anhydrobiose , les lots sont fixés dans l'alcool bouillant. Les extraits aqueux sont alors préparés selon le mode opératoire habituel et les dosages sont réalisés comme précédemment.

c) Résultats.

(voir : Figure 13, Tableau 10)

1°) EXPERIENCES REALISEES AVEC UMBILICARIA PUSTULATA

- TABLEAU N° 10 -

ANHYDROBIOSE DE LONGUE DUREE AVEC UMBILICARIA
PUSTULATA

Dosages (p.100 exprimé en glucose)	Début	Après 1 mois	Après 2 mois	Après 3 mois
Sucres réducteurs libres	0,21	0,21	0,17	0,24
Sucres réducteurs après action de l'invertase	0,56	0,51	0,54	0,50
Sucres réducteurs Totaux après action de l'hydrol. acide	1,60	1,94	2,10	1,89

Les lots ont été prélevés en forêt, au moment où la teneur en sucres est particulièrement basse, en automne (après une période d'humidité). Les variations observées pendant l'anhydrobiose sont assez faibles; il est possible cependant que, du deuxième au troisième mois, le taux des holosides et des hétérosides aille en décroissant (voir les deux courbes légèrement parallèles). De toutes façons, les différences sont faibles d'un mois à l'autre.

Il est à noter, que dans ces expériences de longue durée, la faible quantité de matériel récolté ne nous

a pas permis de réaliser des lots témoins, c'est-à-dire, des lots séjournant à la même température et à la même luminosité, mais par contre, convenablement hydratés.

2°) EXPERIENCES REALISEES AVEC CLADONIA IMPEXA.

Quelques expériences, identiques aux précédentes, ont été effectuées sur des lots de Cladonia impexa récoltés en automne et déshydratés pendant 1, 2 et 3 mois.

Les résultats obtenus montrent qu'il n'y a pas de variations notables dans la composition chimique glucidique au cours de l'anhydrobiose, même prolongée.

Exemple :

sucres réducteurs totaux avant la déshydratation	0,33p.100
" " " après 1 mois d'anhydrobiose	0,32p.100
" " " après 2 mois	" 0,32p.100
" " " après 3 mois	" 0,29p.100

CONCLUSION .

La déshydratation d'Umbilicaria pustulata et de Cladonia impexa, suivie d'une durée prolongée d'anhydrobiose (quelques mois), n'apporte pas de grands changements dans la composition glucidique de ces deux Lichens.

La déshydratation progressive chez les Lichens, en amenant les actions diastasiques à un niveau très bas, ralentit considérablement les principales fonctions

physiologiques

Dès lors, la concentration des constituants et, en particulier, celle des constituants glucidiques, se trouve ainsi stabilisée. Les teneurs ne varient que très faiblement durant cette période de vie au ralenti.

III - INFLUENCE DES BASSES TEMPERATURES

SUR LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES DES LICHENS

On sait que les végétaux séjournant à des températures basses (de 0° à 5°C), accumulent des glucides solubles dans les tissus de leurs organes. Ceci s'explique généralement par le ralentissement général des oxydations respiratoires aux basses températures, plus accentué que le ralentissement des réactions d'hydrolyse amenant la formation des glucides solubles. C'est ainsi, que les tubercules de pommes de terre, entreposés à basse température, accumulent des sucres au dépens de l'amidon.

Nous nous sommes demandé si les Lichens, dont beaucoup d'espèces sont adaptées aux températures basses, présentaient des réactions analogues. Pour cela, les lots de Cladonia impexa sont humidifiés et placés dans une armoire à réfrigération, réglée à 1-1° environ et éclairée par un tube lumineux (Mazda, type "Lumière du jour" de 4.000 lux environ disposé à une distance de 40cm pendant une période de six semaines (45 jours). Parallèlement, des lots témoins humidifiés pareillement, sont placés sous une lampe de même puissance, mais à une température de 25° environ (ils servent de lots témoins pour

toute l'expérience).

Au bout de trois semaines, un lot est sorti du réfrigérateur et un autre, de la pièce à 25°. Ces deux lots sont fixés immédiatement.

Trois semaines plus tard (donc six semaines après la récolte) les derniers lots se trouvent respectivement dans la pièce à +1° et dans celle à + 25° sont fixés à leur tour.

Sur les extraits aqueux préparés à partir de ces différents lots, on a effectué successivement, le dosage des glucides solubles par la méthode biochimique classique, puis le dosage des polyalcools dérivés des sucres par la méthode de CAMERON, ROSS et PERCIVAL.

RESULTATS.

a) Glucides solubles totaux (tableaux n° 11, n° 12)

b) Polyalcools totaux (tableaux n° 13, n° 14).

- TABLEAU N° 11 -

a) Glucides solubles.

EVOLUTION DE LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES CHEZ CLADONIA AMPEXA A + 1°			
LOTS REFRIGERES A + 1°	Récolte	Après 3 sem.	Après 6 sem.
SUCRES REDUCTEURS LIBRES	0,15	0,20	0,16
SUCRES REDUCTEURS APRES ACTION INVERTINE	0,27	0,22	0,31
SUCRES REDUCTEURS TOTAUX (HYDROLYSE ACIDE)	0,50	0,30	0,37

RESULTATS EXPRIMES EN P.100 DE GLUCOSE PAR RAPPORT A LA
MATIERE VEGETALE SECHE

- TABLEAU n° 12 -

EVOLUTION DE LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES CHEZ CLADONIA IMPEXA A + 25°			
LOTS TEMOINS A + 25°	Récolte	Après 3 sem.	Après 6 sem.
SUCRES REDUCTEURS LIBRES	0,15	0,16	0,17
SUCRES REDUCTEURS APRES ACTION INVERTINE	0,27	0,33	0,34
SUCRES REDUCTEURS TOTAUX (HYDROLYSE ACIDE).	0,50	0,40	0,44

Les résultats obtenus, contrairement à ce que l'on pouvait attendre, montrent que la teneur en glucides solubles semble diminuer aux basses températures, tout au moins ^{au} début du séjour au froid. Cette diminution semble provenir d'un abaissement du taux des holosides et des hétérosides. On observe également, une diminution des glucides solubles totaux, mais moins accentuée, après un séjour à + 25° (témoins).

b) Polyalcools totaux

- TABLEAU N° 13 -

EVOLUTION DE LA TENEUR EN POLYALCOOLS CHEZ CLADONIA IMPEXA A + 1°			
RESULTATS EXPRIMES EN C. DE MANNITOL POUR 100g. DE MATIERE VEGETALE SECHE			
LOTS REFRIGERES A + 1°	Récolte	Après	Après
		3 sem.	6 sem.
POLYALCOOLS DERIVES DES SUCRES	1,70	0,65	0,66

- TABLEAU N° 14 -

EVOLUTION DE LA TENEUR EN POLYALCOOLS CHEZ CLADONIA IMPEXA A + 25°			
RESULTATS EXPRIMES EN C. DE MANNITOL POUR 100g. DE MATIERE VEGETALE SECHE.			
LOTS "TEMOINS" A + 25°	Récolte	après	après
		3 sem.	6 sem.
POLYALCOOLS DERIVES DES SUCRES	1,70	0,95	1,08

Dans les conditions d' éclaircissement utilisées (éclairage relativement faible) et en présence d'une forte humidité (saturation de l'atmosphère), on observe une diminution de la teneur en polyalcools totaux. De plus, cette diminution est très accentuée lorsque les végétaux séjournent à basse température. Il est à noter que, pour les glucides solubles totaux comme pour les polyalcools totaux, la baisse du taux se manifeste au début de l'expérience, la teneur se stabilisant dans les trois semaines suivantes.

DISCUSSION DES RESULTATS OBTENUS ET CONCLUSION

1°) Un premier fait doit être retenu, c'est la faible teneur en glucides solubles totaux des Lichens examinés (de 0,8p.100 à 3,4p.100, exprimée en glucose). Il semble y avoir une exception lorsque l'espèce considérée contient des hétérosides dont l'aglycone est un polyalcool; dans ce cas, la teneur peut atteindre 3,44 p.100 (exprimée en glucose) comme par exemple, chez le Peltigera ou chez l'Umbilicaria.

Ces faibles teneurs ne traduisent pas obligatoirement un métabolisme glucidique particulièrement faible, car une partie importante des substances hydrocarbonées ternaires se trouve sous une autre forme, très voisine de celle des sucres : les polyalcools. En effet, ceux-ci sont toujours présents dans les Lichens, en quantité parfois assez importante (de 1,7 p.100 à 4,9p.100, exprimée en mannitol). Si on additionne ces deux teneurs (glucides solubles proprement dits et polyalcools), on obtient alors des teneurs assez considérables, allant de 2,5p.100 à 6,5p.100.

C₁ du carbone du galactose.

Sa formule brute est C₁₂H₂₄O₁₁ ; son point de fusion instantané : 162° ; son pouvoir rotatoire, fortement lévogyre : $(\alpha)_{\frac{20}{D}} = -55^{\circ}5$ (dans l'eau).

Sa formule brute et son comportement chromatographique sur papier sont très voisins de ceux des diholosides et en particulier du saccharose (même Rf dans le mélange développant : butanol 4, éthanol 1, , eau 1,9 de HOUGH, LONES et WADMAN).

Nous proposons le nom de "peltigeroside" pour ce nouveau corps. Chez Peltigera horizontalis, la teneur en peltigeroside semble être très importante, puisque nous en avons trouvé 4,8 p.100 chez ce Lichen récolté en avril.

A propos de ces hétérosides dont l'aglycone est un polyalcool, il faut signaler que les Lichens ne sont pas les seuls végétaux à en élaborer. Nous avons vu en effet, dans notre historique, que certaines Algues, comme par exemple Fucus vesiculosus et Pelvetia canaliculata contiennent des substances analogues, mais cependant non identiques.

L'existence de ces corps montre que chez les Lichens, comme probablement chez d'autres Thallophytes et en particulier les Algues, le métabolisme des oses et des osides est intimement lié à celui des polyalcools

et que des condensations mixtes d'oses et de polyalcools peuvent se réaliser. Il serait intéressant de rechercher quels systèmes diastasiques président à de telles combinaisons.

Nous avons démontré, en identifiant les substances par chromatographie sur papier et en les isolant chez beaucoup de Lichens, que les principaux polyalcools rencontrés chez les Lichens sont surtout le mannitol et l'arabitol.

Le mannitol et l'arabitol sont en effet présents chez Umbilicaria pustulata, Evernia prunastri, Usnea comosa, Xanthoria parietina, chez les Cladonia et les Parmelia. Le mannitol est aussi présent chez Peltigera horizontalis et chez Gyrophora murina, mais ces deux Lichens ne semblent pas posséder d'arabitol.

Nous avons vu que ces polyalcools pouvaient atteindre des concentrations de l'ordre de 4,92p.100 de la substance sèche.

D'autres polyalcools existent également chez des Thallophytes, comme par exemple le volémitol. Celui-ci a déjà été signalé par Y. ASAHINA et KAGITANI (2) en 1934 dans Dermatocarpon mignatum, puis vingt ans plus tard, par LINDBERG, MISIORNY et WACHTMEISTER (36) dans trois autres Dermatocarpon.

Nous avons, nous-même, au cours de nos analyses chromatographiques, décelé la présence d'un certain

nombre de polyalcools différents du mannitol et de l'arabitol, principalement le volémitol ; mais nos résultats ne sont pas suffisamment sûrs pour être rapportés ici. De toutes façons, ces polyalcools sont nettement moins abondants que ne le sont le mannitol et l'arabitol.

En considérant la liste de ces composés, substances glucidiques solubles et apparentées, on voit donc que la composition des Lichens est complexe. On est tenté évidemment de se demander, dans quelle partie de la symbiose lichénique se trouvent ces différentes substances et surtout quel est l'associé (Algue ou Champignon) qui a engendré chaque substance de cet ensemble complexe.

Il eut été sûrement fort instructif à ce sujet, de réaliser des analyses distinctes de l'Algue et du Champignon pour chaque espèce. Malheureusement, à l'échelle macro-chimique qui était la nôtre, une telle séparation était inconcevable. Nous nous sommes donc contenté à ce sujet d'émettre des hypothèses.

Vraisemblablement, les oses (glucose, fructose, galactose) et aussi le saccharose, sont élaborés par l'Algue du Lichen. On sait en effet, que les Algues vertes élaborent des glucides souvent identiques à ceux

des végétaux supérieurs, contrairement aux Champignons qui ne montrent pas, ou en très faible quantité (et encore très rarement) de glucose et de saccharose (voir historique).

Pour ce qui est des autres constituants, il est difficile d'émettre une hypothèse. En effet, le tréhalose et les polyalcools (mannitol, arabitol, volémitol etc...) peuvent provenir tout aussi bien de l'Algue que du Champignon. Quant aux hétérosides à polyalcools (umbilicine, peltigeroside etc...) et, bien que des corps analogues aient été trouvés chez certaines Algues, il est assez difficile de dire si ces substances sont élaborées par l'Algue ou par le Champignon ou encore, par un processus tenant à la fois des deux associés.

3°) L'évolution de la teneur en glucides solubles chez Umbilicaria pustulata, au cours d'une année de végétation, montre que des variations importantes se manifestent selon les saisons.

C'est en plein été, au moment où l'intensité lumineuse est très forte sur les rochers exposés au soleil et où la photopériode est longue, que le Lichen est le plus riche en glucides solubles totaux et, plus particulièrement, en hétérosides (umbilicine).

Il est très significatif que, sensiblement à cette

même époque, on observe aussi le maximum de polyalcools dans le thalle.

Au contraire, à l'automne, le taux des glucides solubles totaux s'abaisse, en particulier celui des hétérosides et, parallèlement, celui des polyalcools totaux. L'évolution des glucides solubles totaux et celle des polyalcools totaux sont donc assez parallèles, d'une manière générale.

Ceci tend à prouver :

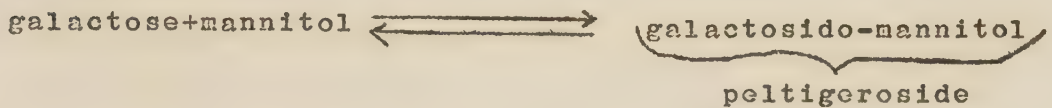
- 1°) Que les conditions estivales et, vraisemblablement, la forte intensité lumineuse en particulier, entraînent, malgré les fortes températures qui règnent généralement à cette saison, une accumulation de substances hydro-carbonées (glucides + polyalcools).
- 2°) Que l'enrichissement en polyalcools s'accompagne, presque toujours, d'un enrichissement en hétérosides à polyalcools.

Signalons que RIQUIER, étudiant l'évolution de la teneur en polyalcools chez une Algue : Pelvetia canaliculata, a également trouvé la plus forte teneur au moment de l'insolation maximum en été. Nos résultats s'accordent bien là avec ceux de cet auteur.

Le parallélisme que l'on peut observer entre l'é-

volution des hétérosides à polyalcools et des polyalcools à l'état libre, peut nous conduire à penser qu'il existe vraisemblablement un lien direct entre les deux.

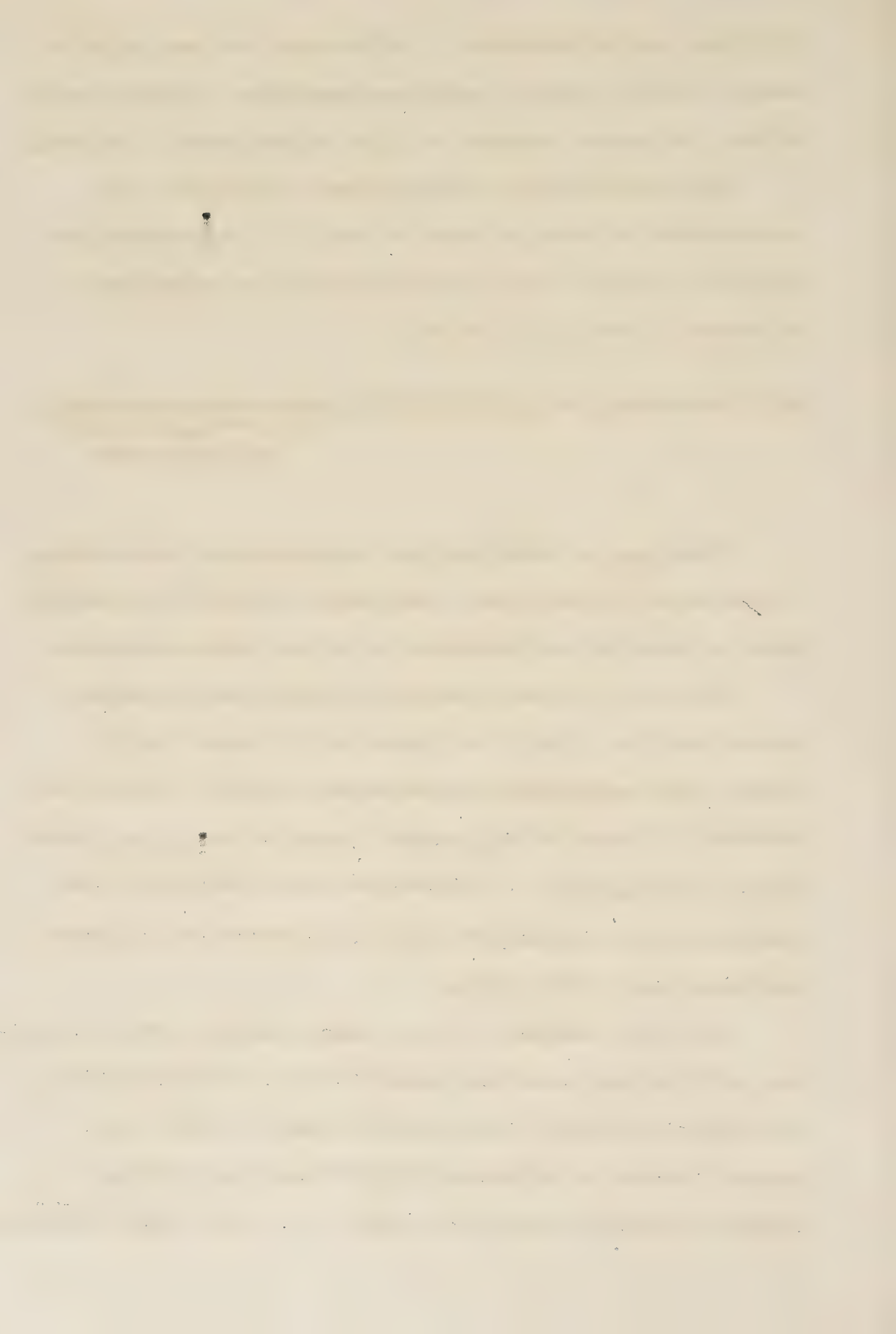
Une concentration relativement importante en polyalcools amènerait, dans ce cas, la combinaison de ceux-ci avec des oses (en particulier le galactose) ; on aurait alors la réaction :



Bien que la réaction soit probablement réversible, l'abondance du mannitol favoriserait plutôt la réaction dans le sens de la formation du galactosido-mannitol.

De plus, les oses, comme le galactose lui-même, pourraient être liés à la formation du mannitol. En effet, les expériences récentes de BIDWELL, CRAIGIE et KROTKOV (7) avec du CO_2 marqué (exprimé en $^{14}\text{CO}_2$) chez Fucus vesiculosus, ont montré que le mannitol est rapidement et abondamment formé, au cours de la photosynthèse chez cette Algue.

Chez les Lichens, il est donc possible que le mannitol soit un des premiers produits de la photosynthèse, la réduction allant ici plus loin que le stade ose, comme l'expose d'ailleurs QUILLET dans son schéma (indiqué déjà par nous à la page), dont voici l'essentiel.





Une isomérase permettrait la transformation du glucose en fructose et le métabolisme respiratoire faciliterait la transformation du fructose en mannitol (grâce à l'apport de 2 H).

On voit, d'après ce schéma, comme il serait facile de passer d'un ose à un polyalcool et réciproquement.

4°) Les quelques expériences, malheureusement trop partielles, que nous avons pu entreprendre sur l'influence de l'anhydrobiose, semblent devoir montrer que la déshydratation progressive, suivie d'une anhydrobiose prolongée, n'a pas de répercussions très profondes sur la composition glucidique du thalle. Les quelques différences observées, après une anhydrobiose de longue durée, dans le contenu glucidique, ne paraissent pas toujours très significatives.

On peut penser que l'anhydrobiose, qui entraîne une vie au ralenti, permet la stabilisation de la composition glucidique au taux observé au moment où la déshydratation atteint son maximum.

5°) En ce qui concerne l'influence des basses températures, nous voyons que les Lichens étudiés, exposés à une basse température et, conjointement, à une intensité lumineuse relativement faible (de l'ordre de 4.000 lux) pendant quarante cinq jours, s'appauvrissent en glucides solubles totaux et en polyalcools. Dans le même temps, des témoins exposés à des températures moyennes (+ 25°), mais soumis cependant à la même intensité lumineuse, sont le siège de phénomènes semblables, mais moins accentués.

Ces résultats paraissent surprenants ; nous nous attendions en effet, à observer un léger enrichissement en sucres, comme cela se produit lorsque des plantes ou des organes de végétaux supérieurs sont exposés au froid (exemple : des tubercules de pommes de terre entreposés à basse température, accumulent des glucides solubles au dépens de l'amidon).

Ce point intéressant du comportement de Cladonia impexa mériterait, à lui seul, d'être approfondi, et cette étude devrait être étendue à d'autres espèces.

R E S U M E

En résumé, notre travail a permis de préciser les points suivants :

- Les Lichens de la région parisienne ont une composition glucidique complexe. Ces glucides solubles sont généralement peu abondants, mais il existe à côté d'eux, des polyalcools en quantité notable.

Ces glucides sont des oses (glucose, fructose, galactose), des holosides (saccharose, tréhalose), parfois des hétérosides à polyalcools, dont le pouvoir rotatoire est fortement lévogyre et enfin, des polyalcools dérivés des sucres (mannitol, arabitol, volémitol).

Nos recherches nous ont ainsi amené à découvrir un hétéroside nouveau, le peltigeroside (mannitol + galactose), appartenant à cette série assez particulière d'hétérosides dont l'aglycone est un polyalcool. Il est abondant dans le Lichen Peltigera horizontalis.

- La teneur en glucides solubles et en polyalcools varie largement au cours d'une année de végétation.

Chez Umbilicaria pustulata, les plus fortes concentrations s'observent l'été et les plus faibles, à l'automne et au début du printemps.

Le taux des glucides solubles évolue approximativement comme la teneur en polyalcools totaux. Il doit exister une relation étroite entre ces deux catégories de corps, qui, chimiquement d'ailleurs, sont très voisins.

- L'anhydrobiose ne semble avoir que de très faibles répercussions sur le contenu glucidique des Lichens.

- Le séjour au froid paraît appauvrir les thalles en glucides solubles et en polyalcools. Ce dernier point mériterait néanmoins d'être éclairci.

- B I B L I O G R A P H I E -

- 1 - ABBAYES (H. des). Traité de Lichénologie. Lechevallier; Paris - 1951.
- 2 - ASAHINA (Y.), SHIBATA (S.). Chemistry of lichens Substances. Marunzen Tokio. 1954.
- 3 - AUGIER (F.) Constitution et biologie des Rhodophycées d'eau douce. Thèse. Paris. 1934 (Louis Jean - Gap).
- 4 - BACHMANN - 1890 - Cité dans Traité de Lichénologie (1) - p. 76.
- 5 - BERTRAND (G.) Bull. Soc. Chim. Fr., 1906, 35, 1285-1299.
- 6 - BERZELIUS 1813. Cité dans Traité de Lichénologie (1) p. 74.
- 7 - BIDWELL (R.), CRAIGIE (J.), KROTKOV (G.) Canad. J. Bot. 1958, 36, 581-590.
- 8 - BOURQUELOT (E.) C.R. Ac. Sc., 1890, 111, 534-536
- 9 - BOURQUELOT (E.) C.R. Ac. Sc. , 1901, 133, 690-692
- 10 - BOURQUELOT (E.), BEIDEL (C.). C.R. Ac. Sc. 1919, 168, 1016-1018
- 11 - BRACONNOT. 1811. Cité dans Revue de Mycologie. 1946, 19, 16
- 12 - BRADFIELD (A.), FLOOD (E.) Nature, 1950, 166, 264-265.
- 13 - CAMERON (M.), ROSS (A.), PERCIVAL (E.) J. Soc. Chem. Ind., 1948, 67, 161-163.
- 14 - CENGIA-SAMBO - 1922. Cité dans Traité de Lichénologie (1) p. 74 et 77.
- 15 - CERBULIS (J.) - Anal. Chem. 1955, 27, 1400-1401.
- 16 - CHODAT (R.) - 1912-13. Cité dans Traité de Lichénologie (1). p. 124.

- 17 - COLIN (H.), GUÉGUEN (E.) C. R. Ac. Sc., 1930, 190, 653-655 ; 1932, 191, 163-164.
- 18 - COLIN (H.), PAYEN (J.). C. R. Ac. Sc., 1934, 198 384 - 386.
- 19 - COLIN (H.), AUGIER (J.). C. R. Ac. Sc. 1933, 196, 422-424.
- 20 - COLIN (H.), GUÉGUEN (E.). C.R.Ac. Sc., 1933, 197 1688.-1690.
- 21 - COLIN (H.) - C. R. Ac. Sc., 1934, 199, 968.-970.
- 22 - DONEN (I.) - Biochem. J., 1939, 33, 1611
- 23 - DUGHI (R.) - 1944 - Cité dans le Traité de Lichénologie (1)p. 91-92 .
- 24 - ERRERA (L.) - 1882. Cité dans le Traité de Lichénologie (1) p.77.
- 25 - FRÈREJACQUE (M.)-C.R. Ac. Sc., 1941, 213, 88-90; 1953, 236, 2451-2453 .
- 26 - FRÈREJACQUE (M.) Revue de Mycologie, 1946, 19, 16-19.
- 27 - GARDELL (S.) - Acta Chem. Sc., 1953, 7, 201-206 .
- 28 - GOEBEL.1830. Cité dans le Traité de Lichénologie (1) p. 77.
- 29 - GUÉRIN-VARRY - 1834. Cité dans le Traité de Lichénologie (1).p. 74 .
- 30 - HIRST (E.), JONES (J.). J. Chem. Soc., 1949, 1659 ,
- 31 - HOUGH (L.), JONES (J.), WADMAN (W.), J. Chem. Soc., 1950, 1702 .
- 32 - JUMELLE.1892. Cité dans le Traité de Lichénologie (1), p. 94.
- 33 - LÉBOUCHE (A.M.) - Glucides de "Caulacanthus Ustulatus". D.E.S. Paris, 1957
- 34 - LINDBERG (B), WICKBERG (B.), WACHTMEISTER (C.A.), Acta Chem. Sc., 1952,6, 1052-55.
- 35 - LINDBERG (B.), WICKBERG (B.), Acta Chem. Sc., 1953, 7, 140-142.

- 36 - LINDBERG (B.), MISIORNY (A.), WACHTMEISTER (C.A.)
Acta. Chem. Sc., 1953, 7, 591-595.
- 37 - LINDBERG (B.), Acta Chem. Sc. , 1953, 7, 1119-1122.
- 38 - LINDBERG (B.), PAJU (J.), Acta Chem. Sc., 1954, 8, 817-820 .
- 39 - MAMELI (E.), 1919. Cité dans le Traité de Lichénologie (1). p. 77 .
- 40 - MANGIN (M.), C.R.A. Sc. 1910, 151, 279-283
- 41 - MANGIN (M.), C. R. Ac.Sc., 1910, 151, 279-283 .
- 42 - MORUZI, 1931. Cité dans le Traité de Lichénologie (1) p. 73-74.
- 43 - MUHKERJEE (S.), SRIVASTAVA (S.) Nature, 1952, 169, 330 .
- 44 - MULLER, 1905. Cité dans le Traité de Lichénologie (1)p. 74.
- 45 - OBATON (F.). Evolution du mannitol chez les végétaux. Thèse. Paris, 1929.(Lib. G.E.)
- 46 - PLANTEFOL (L.). Etude biologique de l'"Hypnum Triquetrum" (muscinée). Relation entre la morphologie, la physiologie et l'écologie d'une espèce végétale. Thèse. Paris, 1926. (Masson).
- 47 - PUEYO (G.), C.R.Ac.Sc^{Sc.} 1959, 248, 2788-2790.
- 48 - QUILLET (M.). Recherches biochimiques et physiologiques sur les mucilages des Champignons supérieurs. Thèse, Paris, 1942.(Argus - Soissons)
- 49 - QUILLET (M.), LEGRAND (G.), C. R. Ac. Sc., 1952, 234, 876-878 ; 235, 311-313, 628-629
- 50 - QUILLET (M.), C. R. Ac. Sc., 1954, 238, 926-928 ,
- 51 - QUILLET (M.) C.R.Ac.Sc^{Sc.}. 1958, 246, 812-815.
- 52 - QUILLET (M.) Bull. Labo. maritime Dinard, 1958, 43, 119-125.
- 53 - QUISPTEL, 1945 - Cité dans le Traité de Lichénologie (1), p. 124.

- 54 - RANGASWAMI (S.), SUBRAMANIAN (S.). J. Sc. Ind.
Res, 1956, 25, 30-31.
- 55 - REDON, 1940 - Cité dans le Traité de Lichénologie
(1) - p. 74.
- 56 - RICARD, Anal. Inst. Océanogr., 1938, VIII, II.
- 57 - RIQUIER (B), Polyalcools chez "Pelvetia canaliculata"
D.E.S. Paris, 1958.
- 58 - SCARAMELLA, 1931 - Cité dans le Traité de Lichénologie
(1).p. 76.
- 59 - STUDE, 1864. Cité dans le Traité de Lichénologie (1).
p. 74.
- 60 - TOBLER , 1923-25. Cité dans le Traité de Lichénologie
(1).p.77.
- 61 - ULANDER, 1905. Cité dans le Traité de Lichénologie
(1). p. 74.
- 62 - ULRICH (R.), Revue de Mycologie - 1943. Mémoire
hors série n° 3.
- 63 - VISSELINGH (V.), 1898. Cité dans le Traité de Liché-
nologie (1). p. 74.

- OUVRAGES CONSULTÉS -

- H. des ABBAYES

Traité de Lichénologie. Lechevallier (édit) Paris 1951.

- Y. ASAHINA, S.S. SHIBATA.

Chemistry of Lichens Substances - Marunzen - C°(Edit)
Tokio - 1954.

- V. GRIGNARD

Précis de Chimie organique - Masson (édit). Paris 1949.

- M. GUILLAUMOT

Flore des Lichens de France et de Grande-Bretagne.
Lechevallier (édit). Paris. 1951.

- A. GUILLERMOND, G. MANGENOT.

Précis de Biologie végétale. Masson (édit.) Paris 1946.

- V. HAZENFRATZ, M. FRÈREJACQUE

Osés et Holosides - extrait du Tome VIII du traité
de Chimie organique (Grignard) - Masson (édit.)
Paris 1938.

- M. POLONOVSKI, A. LESPAGNOL

Eléments de Chimie-Organique-Biologique.
Masson (édit. Paris 1934.

- N. WATTIEZ, F. STERNON

Eléments de Chimie végétale, Masson (édit) Paris 1942.

TABLE DES MATIERES

Pages

HISTORIQUE

Introduction	1
Exposé des connaissances actuelles	6
I - Identification des glucides chez les Thallophytes	6
II - Métabolisme des glucides chez les Thallophytes.	13

TRAVAUX PERSONNELS

Introduction	25
--------------	----

PREMIERE PARTIE

Identification, dosage et extraction
des glucides solubles et des polyalcools
dérivés des sucres chez les Lichens

<u>I - IDENTIFICATION ET DOSAGE DES GLUCIDES SOLUBLES</u>	27
A - <u>Dosage des glucides solubles</u>	27
a) <u>Exposé de la technique de dosage</u>	27
b) <u>Résultats</u> (Tableau n° 1)	21
B - <u>Identification des glucides solubles</u>	35
a) <u>Préparation des extraits</u>	35
b) <u>Réalisation de la chromatographie</u>	35
c) <u>Résultats</u>	37
<u>II - IDENTIFICATION ET DOSAGE DES POLYALCOOLS</u>	41
A - <u>Dosage des polyalcools totaux</u>	41
a) <u>Exposé de la technique de dosage</u>	41
b) <u>Résultats</u>	43

B - <u>Identification des polyalcools par</u>	
<u>chromatographie</u>	45
a) <u>Préparation des extraits</u>	45
b) <u>Chromatographie des polyalcools</u>	47
c) <u>Résultats</u>	48

III - ESSAIS D'EXTRACTION ET DE PURIFICATION DE CERTAINES SUBSTANCES GLUCIDIQUES OU APPARENTES 51

A - <u>Extraction, isolement, purification et</u>	
<u>identification du principe glucidique non</u>	52
<u>réducteur présent chez Peltigera horizontalis</u>	
a) <u>Extraction</u>	53
b) <u>Purification de l'extrait</u>	53
c) <u>Cristallisation</u>	55
d) <u>Chromatographie sur poudre de cellulose</u>	56
e) <u>Caractérisation du corps</u>	58
f) <u>Essais de séparation des 2 constituants</u>	60

B - <u>Essais de séparation des polyalcools dérivés</u>	
<u>des sucres</u>	67
<u>Umbilicaria pustulata</u>	68
a) <u>Techniques utilisées</u>	68
b) <u>Résultats</u>	70
<u>Parmelia caperata</u>	72
a) <u>Techniques utilisées</u>	72
b) <u>Résultats</u>	72
<u>Cladonia impexa</u>	73
a) <u>Techniques utilisées</u>	73
b) <u>Résultats</u>	74
<u>Peltigera horizontalis</u>	75
a) <u>Techniques utilisées</u>	75
b) <u>Résultats</u>	76

<u>CONCLUSION (de B)</u>	78
---------------------------	----

<u>CONCLUSIONS DE LA PREMIERE PARTIE</u>	80
--	----

DEUXIEME PARTIE

Variations de la teneur en glucides solubles et en polyalcools en fonction des conditions de vie des Lichens

	33
I - <u>VARIATION DE LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES ET EN POLYALCOOLS CHEZ UMBILICARIA PUSTULATA AU COURS D'UN AN DE VEGETATION</u>	35
A - <u>Variations des glucides solubles</u>	36
a) <u>Exposé de la technique de dosage</u>	36
b) <u>Résultats</u>	37
B - <u>Variations des polyalcools totaux</u>	93
a) <u>Techniques de dosage</u>	93
b) <u>Résultats</u>	97
 II - <u>INFLUENCE DE L'ANHYDROBIOSE SUR LES GLUCIDES SOLUBLES</u>	 99
A - <u>Essais de courte durée (3 semaines)</u>	102
a) <u>Exposé du dispositif d'installation</u>	102
b) <u>Mode expérimental</u>	105
c) <u>Résultats</u>	105
B - <u>Essais de longue durée (3 mois)</u>	108
a) <u>Dispositif d'installation</u>	108
b) <u>Mode expérimental</u>	108
c) <u>Résultats</u>	109
 III - <u>INFLUENCE DES BASSES TEMPERATURES SUR LA TENEUR EN GLUCIDES SOLUBLES DES LICHENS</u>	 113
a) <u>Glucides solubles totaux</u>	115
b) <u>Polyalcools totaux</u>	117
 <u>CONCLUSION</u>	 119
Discussion des résultats obtenus et conclusion	
 <u>RESUME</u>	 129
 BIBLIOGRAPHIE	 131

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

les MYCORHIZES des arbres

Vu et approuvé:

Paris, le 18 Décembre 1959

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

J. PERES

VU

et Permis d'imprimer:

**Le Recteur de l'Académie
de Paris,**

Jean SARRAILH

